



KERNFORSCHUNGSANLAGE JÜLICH GmbH

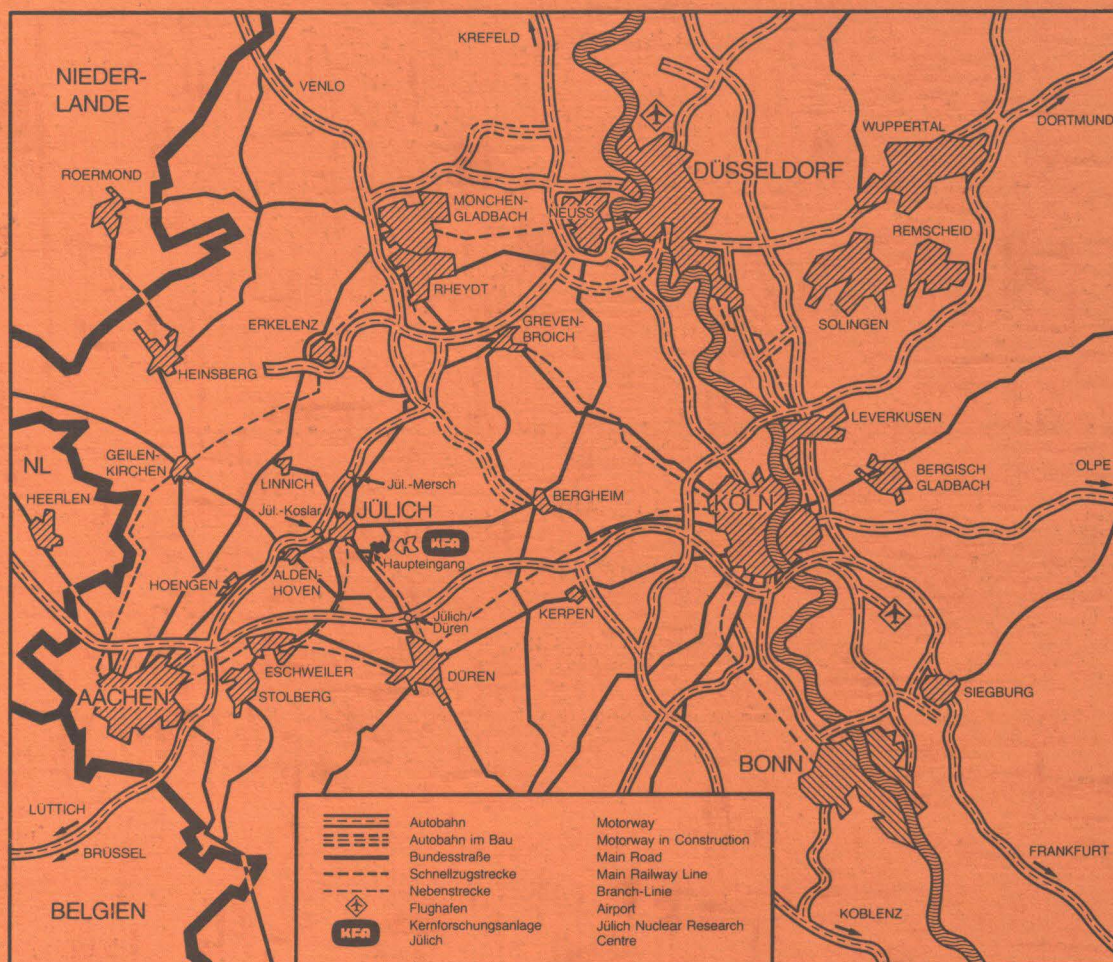
Institut für Biotechnologie 2

**Reaktionstechnische Untersuchungen zur
kontinuierlichen anaeroben Fermentation,
dargestellt an der Reinigung
essigsäurehaltiger Abwässer mit
methanogenen Bakterien**

von

K. Bastin

Jül – Spez – 217
August 1983
ISSN 0343-7639



Als Manuskript gedruckt

Spezielle Berichte der Kernforschungsanlage Jülich – Nr. 217

Institut für Biotechnologie 2 Jül – Spez – 217

Zu beziehen durch: ZENTRALBIBLIOTHEK der Kernforschungsanlage Jülich GmbH

Postfach 1913 · D-5170 Jülich (Bundesrepublik Deutschland)

Telefon: 02461/610 · Telex: 833556-0 kf d

**Reaktionstechnische Untersuchungen zur
kontinuierlichen anaeroben Fermentation,
dargestellt an der Reinigung
essigsäurehaltiger Abwässer mit
methanogenen Bakterien**

von

Kh. Bastin

A b s t r a c t

Investigations on Reaction Technology of Continuous Anaerobic Digestion, Shown by the Purification of an Acetic Acid Containig Waste Water with Methanogenic Bacteria

This thesis deals with the reaction technology and application of anaerobic digestion in order to purify a waste water from pulp industries. A synthetic waste water, whose composition corresponded to the condenser water of sulfite waste liquor, was used for experiments. Acetic acid as the main waste load was the only carbon source. It was decomposed to biogas, a mixture of methane and carbon dioxide, by methanogenic bacteria of the species Methanosarcina barkeri. The bacterial culture was handled without sterile procedures and it did contain sulfate reducing bacteria that provided a favourable concentration of sulfide.

In reaction engineering terms, the Continuous Stirred Tank Reactor was found to be the optimal reactor for this process. The pH-shift during decomposition of acetic acid was calculated by a Fortran program and resulted in a concept for controlling a continuous biogas reactor.

The process of anaerobic digestion was transferred from bench scale to pilot scale and the reaction volume was enlarged to 135 l. For this scale a fermentation plant was projected, constructed by an engineering firm, and started in operation. Strong emphasis was put on the measuring and control equipment and on the coupling of this equipment to a process control computer.

The software for the registration of experimental values and the control of the plant was developed and mainly used for the optimal operation of the plant. The generation time of the culture was minimized by maximizing the selection pressure in order to get maximal biogas productivity. The computer was used in such a way that the plant was brought to maximal biogas production automatically.

A considerable decrease of the retention time - in connection with the increase of biomass concentration in the fermenter - was achieved by use of a rotating filter for biomass retention.

The applicability of anaerobic digestion to the treatment of special industrial waste waters was shown by the operation of the plant. The fundamentals for the use of this process in a technical scale were worked out. Economic advantages can be expected as well as ecological ones.

K u r z f a s s u n g

Reaktionstechnische Untersuchungen zur kontinuierlichen anaeroben Fermentation, dargestellt an der Reinigung essigsäurehaltiger Abwässer mit methanogenen Bakterien

Gegenstand dieser Arbeit ist eine anaerobe Fermentation zur Abwasserbehandlung unter reaktionstechnischen und anwendungsorientierten Gesichtspunkten. Die Untersuchungen wurden an einem Modellabwasser, das dem Brüdenkondensat der Zellstoffindustrie angelehnt war, durchgeführt. Die als alleinige C-Quelle enthaltene Essigsäure, die die Hauptbelastung des Brüdenkondensates ausmacht, wurde durch methanogene Bakterien der Spezies Methanosarcina barkeri zu Biogas, einem Gemisch aus Methan und Kohlendioxid, abgebaut. Die dafür eingesetzte Bakterienkultur, die unter unsterilen Bedingungen geführt wurde, enthielt außerdem sogenannte Sulfatreduzierer, die für die Einstellung einer günstigen Sulfidkonzentration sorgten.

Anhand reaktionstechnischer Betrachtungen wurde der kontinuierliche Rührkessel für diesen Prozeß als der optimale Reaktor ausgesucht. Die Berechnung des pH-Wertverlaufes beim Essigsäureabbau erfolgte mit Hilfe von Fortran-Programmen und führte zu einem Regelkonzept für die kontinuierliche Betriebsweise eines Biogasreaktors.

Der Prozeß der anaeroben Fermentation wurde vom Labormaßstab in den Technikumsmaßstab übertragen und das Reaktionsvolumen auf 135 l vergrößert. Hierzu wurde eine Fermentationsanlage mit 150 l Totalvolumen geplant und nach der Konstruktion und Aufstellung durch einen Fermenterhersteller in Betrieb genommen. Auf die meß- und regelungstechnische Ausrüstung und auf die Kopplung der Anlage mit einem Prozeßrechner wurde besonderer Wert gelegt.

Die Meßwerterfassung und Steuerung der Anlage durch den Prozeßrechner erforderten die Entwicklung eines umfangreichen Programmpaketes, das im wesentlichen für einen optimalen Betrieb der Anlage eingesetzt wurde. Durch die rechnergesteuerte Maximierung des Selektionsdruckes zugunsten maximaler Biogasproduktivität konnte die Verdopplungszeit der Population verkürzt werden. Dabei wurde der Rechner so eingesetzt, daß beim Betrieb der Anlage automatisch ein Arbeitspunkt nahe der maximalen Biogasproduktivität eingestellt wurde.

Eine wesentliche Verkürzung der Verweilzeit - gekoppelt mit einer Steigerung der Biomassekonzentration im Fermenter - war durch den Einsatz eines rotierenden Filters für die Biomasserückhaltung möglich.

Zusammenfassend zeigte der Betrieb der Anlage, daß die anaerobe Fermentation sehr gut für die Behandlung spezieller industrieller Abwässer geeignet ist. Für den Einsatz dieses Prozesses im großtechnischen Maßstab, von dem sowohl wirtschaftliche als auch umwelttechnische Vorteile zu erwarten sind, wurden die reaktionstechnischen Grundlagen erarbeitet.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom August 1979 bis Mai 1983 am Institut für Biotechnologie 2 (IBT 2) der Kernforschungsanlage Jülich GmbH (KFA Jülich) angefertigt.

Herrn Prof. Dr. H.H. Oelert, Institut für Chemische Technologie und Brennstofftechnik der TU Clausthal, danke ich für die Übernahme des Hauptreferates.

Herrn Prof. Dr. C. Wandrey, IBT 2 der KFA Jülich, danke ich für die Übernahme des Korreferates, für die Betreuung der Arbeit und für zahlreiche Anregungen.

Herrn Ing. (grad.) W. Horbach sowie den Herren J. Burghardt und J. Paulzen danke ich für Ihre umfangreichen Arbeiten an der elektrotechnischen Ausrüstung.

Herrn Dipl.-Math. J. Hake, Zentralinstitut für angewandte Mathematik (ZAM), danke ich für die bereitwillige Unterstützung in mathematischen Fragen. Ebenso danke ich Frau K. Baumann, die mich in Fragen der Textverarbeitung unterstützt hat, und allen anderen Mitarbeitern des ZAM, die einen Beitrag zu den EDV-Arbeiten geleistet haben.

Den Damen U. Wichmann und K. Bräker gilt mein Dank für die Ausführung von Zeichnungen, Herrn S. Peters danke ich für die Gestaltung der Fotografien.

Ebenso danke ich den Herren cand. chem. W. Poensgen und cand. chem. W. Miltz, die einen Beitrag zu den analytischen Untersuchungen und zur Auswertung der Messungen geleistet haben.

Mein besonderer Dank gilt meinen Mitarbeitern Herrn A. Lüttgen und Herrn K. Wertz, die durch Ihren unermüdlichen Einsatz im Labor sehr zum Gelingen der Arbeiten beigetragen haben, und der mathematisch-technischen Assistentin Frau R. Hüttl, die die Softwarearbeiten unterstützt hat.

Herrn Dr. L. Jandel danke ich für die kritische Durchsicht der Arbeit.

Außerdem danke ich allen Institutsangehörigen, insbesondere den Mitarbeitern der mechanischen Werkstatt, die diese Arbeit bereitwillig unterstützt haben.

Das Bundesministerium für Forschung und Technologie (BMFT) und die KFA Jülich haben die finanziellen Mittel zur Verfügung gestellt. Ich bedanke mich für die großzügige Unterstützung.

INHALTSVERZEICHNIS

<u>Kapitel</u>	<u>Seite</u>
I. EINLEITUNG	1
II. PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG	4
III. THEORETISCHE GRUNDLAGEN	5
Mikrobielle Methanbildung	5
Kinetik des Essigsäureabbaus und des Zellwachstums	7
pH-Wertverlauf und -berechnungen	11
Modellrechnungen zur Reaktorauslegung	17
IV. APPARATIVER AUFBAU	25
Batch-Reaktoren	25
Fermenter mit 12 l Totalvolumen	26
Fermentationsanlage mit 150 l Totalvolumen	30
Prozeßkopplung mit einem Computer	41
Hardware	43
Software	45
Programme MWE001 und MWE011	45
Programm UMDAMA	47
Programm DAREMA	48
Programm RUDAMA	50
Prozedur LOOPMAC	50
V. ANALYTIK	52
Kontinuierliche Messungen	52
pH-Wert	52
Redoxpotential	53
Sulfidkonzentration	55
Menge und Zusammensetzung des Biogases	56
Diskontinuierliche Messungen	56
Bestimmung der Acetatkonzentration	56
Bestimmung der Biotrockenmasse	60
Sonstige analytische Methoden	61
Massenbilanz für Kohlenstoff	61
Chemischer Sauerstoffbedarf	62
Kohlenstoffbestimmung in wäßriger Lösung	63
VI. VERSUCHSERGEBNISSE UND AUSWERTUNG	64
Zusammensetzung und Ansatz der Nährmedien	64
Vorversuche in Batch-Kulturen	66
Bestimmung der Wachstumsrate	67
Untersuchungen zum pH-Optimum	68
Übertragung in kontinuierliche Kulturen	70
Scale-up der Versuche in den 150-l-Maßstab	72

Handsteuerung der Anlage	73
Verfahrensentwicklung zur Anlagensteuerung	77
Meßwerterfassung	78
Steuerung der Substratpumpe 1	80
Regelung der Substratpumpe 2	83
Steuerung der Anlage mit dem Prozeßrechner	83
Biomasserückhaltung durch einen rotierenden Filter	88
Grundlagen und Gerätebeschreibung	88
Funktionstest	89
Regelung des Filtratstromes	90
Betrieb des Rotorfilters	91
VII. DISKUSSION	96
Verfahrenstechnischer Aufbau und Programmierung	96
Experimentelle Ergebnisse	100
Fortsetzung der Arbeiten	102
VIII. ZUSAMMENFASSUNG	105
<u>Anhang</u>	<u>Seite</u>
A. BERECHNUNG DES PH-WERTES IN VERDÜNNTEN LÖSUNGEN	108
Allgemeine Voraussetzungen und Definitionen	108
Berechnung des Basebruches	110
Berechnung des pH-Wertes	110
Berücksichtigung von Kohlendioxid	112
B. BERECHNUNG VON C-BILANZEN	114
C. GERÄTE- UND CHEMIKALIENLISTE	117
Geräte für die 12-l-Fermenter	117
Geräte für die Datenerfassung	118
Sonstige Geräte	118
Chemikalien	119
D. ARBEITSVORSCHRIFTEN FÜR DEN ANSATZ VON NÄHRMEDIEN	120
Nährmedium für die 12-l-Fermenter	120
Substrat 1 für den 150-l-Fermenter	121
Substrat 2 für den 150-l-Fermenter	121
E. DIAGRAMME ZUR DATENVERARBEITUNG	123
Datenflußplan	123
Programmablaufpläne	126
LITERATURVERZEICHNIS	131

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<u>Abb.</u>	<u>Seite</u>
1. Titration von Essigsäure mit Natronlauge	13
2. Titration einer Carbonatlösung mit HCl	15
3. Kehrwert der Reaktionsgeschwindigkeit gegen Umsatz .	18
4. Umsatz gegen Verweilzeit im Rückvermischungsreaktor	20
5. pH-Umsatzkurven für Acetatabbau	22
6. Gefäß für 12-l-Fermenter	27
7. Verfahrensfließbild für 12-l-Fermenter	28
8. Photographie der drei 12-l-Fermenter	29
9. Grundfließbild des 150-l-Fermenters	31
10. Photographie der Anlage	32
11. Verfahrensfließbild des 150-l-Fermenters	33
12. Gerätekonfiguration	44
13. Blockdiagramm für die Datenverarbeitung	46
19. Redoxpotential einer Sulfidlösung in Abhängigkeit vom pH-Wert	54
20. Chromatogramm einer Fermenterprobe mit internem Standard Propanol-2	58
21. Biogasbildung in einer geschlossenen Batch-Kultur .	67
22. Statistische Auswertung zum pH-Optimum	69
23. pH-statischer Betrieb eines 12-l-Fermenters	71
24. U- τ -Kurve für 150-l-Fermenter	73
25. Wachstumsrate in Abhängigkeit vom Umsatz	76
26. Anfahren des Fermenters mit Prozeßrechnersteuerung .	84
27. Bestimmung der Wachstumsrate für den Anfahrvorgang .	85
28. Vorversuch mit dem Rotorfilter	90

29. Betrieb des Fermenters mit dem Rotorfilter	94
30. Abhängigkeit der Verweilzeit von der Rückhalterate	102
14. Datenflußplan, Teil 1	124
14. Datenflußplan, Teil 2	125
15. Programmablaufplan MWE011	127
16. Programmablaufplan UMDAMA	128
17. Programmablaufplan TRKAMA	129
18. Programmablaufplan DAREMA	130

TABELLENVERZEICHNIS

<u>Tabelle</u>	<u>Seite</u>
1. Daten für Reaktorberechnungen.	19
2. Meßstellenliste für 150-l-Fermenter	34
3. Geräteliste für 150-l-Fermenter	37
4. Auswahlkriterien für die Datenverarbeitung	42
5. Daten für die gaschromatographische Acetatbestimmung	57
6. Verdünnungsreihe für die Acetatbestimmung	59
7. Zusammensetzung der Nährmedien	65
8. Wachstumsraten aus Batch-Versuchen	68
9. Meßwerte für U- τ -Kurve, 150-l-Fermenter	74
10. Verstellungen Substratpumpe 1	81
11. Parameter für Pumpenverstellungen	82
12. Meßwerte für rechnergesteuerten Anfahrvorgang . . .	86
13. Prozeßgrößen bei Einsatz des Rotorfilters	92
14. Parameter für Pumpenverstellungen (mit Filtration) .	92
15. Vergleich der Versuchsergebnisse	101
16. Basebrüche für Kohlensäure	116

SYMBOLVERZEICHNIS

A	-	Rückhalterate für Biomasse
b	1/h	Absterberate
BTM	g/l	Biotrockenmasse
c_i oder [i]	mol/l	Konzentration der Komponente i
E	V	Galvanispannung
E_H	V	Standardspannung
E_{Bez}	V	Galvanispannung der Bezugselektrode
F_V	l/h	Volumenstrom
H	mol/l/bar	Henry-Konstante
k_{inc}	1/h	Inkorporationskonstante
k_S	mol/l	Sättigungskonstante
m	mol/g/h	Maintenance-Faktor
M_C	g/mol	Molmasse von Kohlenstoff
n_C	mol/h	Mengenstrom Kohlenstoff
P	bar	Druck
$P(i)$	bar	Partialdruck der Komponente i
pH	-	pH-Wert
R	J/K/mol	ideale Gaskonstante
R	-	Rücklaufverhältnis im Rückvermischungsreaktor: $R = F_V(rück) / F_V(aus)$
r_B	g/l/h	Reaktionsgeschwindigkeit für Biomasse
r_i	mol/l/h	Reaktionsgeschwindigkeit für Komponente i
r_S	mol/l/h	Reaktionsgeschwindigkeit für Substrat
S	mmol/l	Substratkonzentration

S_0	mmol/l	Substratkonz. für $t=0h$
T	$^{\circ}C$ oder K	Temperatur
t	h	Zeit
t_d	h	Verdopplungszeit
U	-	Umsatz
v_{max}	mol/g/h	maximale spezifische Reaktionsgeschwindigkeit
V_R	l	Reaktionsvolumen
X	g/l	Biotrockenmasse
$Y_{X/S}$	g/mol	molarer Ertragskoeffizient (g Zellen pro mol umgesetzter Essigsäure)

Griechische Buchstaben

μ	1/h	Wachstumsrate
μ_{max}	1/h	maximale Wachstumsrate
v_i	-	stoechiometrischer Faktor der Komponente i
τ	h	Verweilzeit

Kapitel I

EINLEITUNG

Das gestiegene Umweltbewußtsein einerseits und die Einsicht in die Leistungsfähigkeit vieler natürlicher Prozesse andererseits haben der Biotechnologie und der Ökologie seit einiger Zeit zu großer Popularität verholfen. Außerdem haben die Energiekrisen der letzten Jahre und die zu einem Politikum gewordene Ablehnung der Kernenergie in weiten Teilen der Bevölkerung denjenigen Disziplinen einen beachtenswerten Aufschwung gebracht, die sich mit sogenannten alternativen Energieformen beschäftigen.

Eine dieser Disziplinen läßt sich am kürzesten mit dem Schlagwort "Biogas" charakterisieren, womit die mikrobielle Methanbildung aus natürlichen Rohstoffen oder Abfallprodukten gemeint ist (1). Eine Welle der Euphorie in den Jahren um 1975, die eine Lösung der Energiefrage durch den Aufbau großer Anlagen zur Biogasgewinnung suggerierte, flachte jedoch bald ab (2). Die Berücksichtigung natürlicher und infrastruktureller Randbedingungen führte zu dem Schluß, daß das Biogas - ebenso wie andere alternative Energieformen - nur einen kleinen Teil des Energiebedarfs decken kann. Außerdem müssen die höherwertigen Nutzungen der Biomasse als Lebensmittel, Futtermittel oder Werkstoff Priorität behalten (3).

Dennoch hat die anaerobe Fermentation, deren Produkt das Biogas ist, durchaus eine Bedeutung und erlebt derzeit einen deutlichen Auftrieb, wie sich durch zahlreiche Nachrichten aus der Tagespresse belegen läßt (4 ... 9). Hierbei werden jedoch stets beide Aspekte der Biogasbildung berücksichtigt:

- In erster Linie ist die anaerobe Fermentation ein hervorragendes Mittel für die Behandlung zahlreicher Abwässer aus Haushalt, Landwirtschaft und Industrie. Dabei wird eine Vielzahl organischer Rückstände vergoren und fast vollständig zu Methan und Kohlendioxid umgesetzt. Ein besonderer Vorteil gegenüber der aeroben Fermentation ist der sehr stark verminderte Anfall von Klärschlamm, der zudem in der Regel problemlos deponiert werden kann (10).
- Darüberhinaus ist das Hauptprodukt der anaeroben Fermentation, das sog. Biogas, ein brennbares Gas, in dem ein Großteil der in den Substraten vorhandenen chemischen Energie noch in Form von Methan enthalten ist. Durch die Verbrennung des Methans kann der Energiebedarf des gesamten Prozesses verringert werden. Gut geführte Kläranlagen können z.B. energieautark betrieben werden.

Durch die Änderung der Wassergütepolitik in der Bundesrepublik Deutschland (11) sahen sich zahlreiche Unternehmen, die zu den sogenannten Direkteinleitern gehören, gezwungen, die Menge der in Gewässer eingeleiteten Schadstoffe zu reduzie-

ren, wenn sie nicht hohe finanzielle Abgaben in Kauf nehmen wollten.

Vor der Novellierung im Jahre 1976 war das sogenannte Wasserhaushaltsgesetz (WHG), das "Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts" (12), das wesentliche Instrument der Wassergütepolitik. Es regelt zwar grundsätzlich jede Benutzung eines Gewässers, reichte jedoch nicht aus, die dringend notwendige Qualitätsverbesserung der Oberflächengewässer herbeizuführen. Daher wurde mit dem Abwasserabgabengesetz (AbwAG), dem "Gesetz über Abgaben für das Einleiten von Abwasser in Gewässer" (12), ein weiteres wichtiges Instrument geschaffen.

Dieses Gesetz wurde am 13.9.1976 verabschiedet und trat am 1.1.1978 in Kraft; Abgaben wurden jedoch erstmals für 1981 erhoben. Es regelt lediglich Abwassereinleitungen und wendet sich ausschließlich an Direkteinleiter. Für die Abgabenberechnung werden die Abwassermenge, absetzbare Stoffe, CSB, Cadmium, Quecksilber und Fischgiftigkeit berücksichtigt, wobei die Bestimmungsmethoden jedoch nicht endgültig geklärt sind. Für organische Inhaltsstoffe ist der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) die entscheidende Meßgröße, die im Gegensatz zum biologischen Sauerstoffbedarf (als BSB5) auch schwer abbaubare Stoffe erfaßt.

Als Beispiele für betroffene Industriezweige, deren Abwässer zudem für eine anaerobe Fermentation geeignet sind, seien die Zellstoffindustrie, Zuckerfabriken, Molkereien und Brauereien genannt.

Für die vorliegende Arbeit diene das sogenannte Brüdenkondensat, das man bei der Zellstoffherstellung beim Eindampfen der Sulfitablaugen erhält, als Modells substanz.

Bei der Verarbeitung von Rohhölzern zu Zellstoff müssen die Begleitstoffe der Cellulose, im wesentlichen Lignin und Hemicellulosen, aufgeschlossen und abgetrennt werden. Für den Aufschluß setzt man entweder das im Säuren arbeitende Sulfitverfahren oder das alkalisch arbeitende Sulfatverfahren ein (13). Während in der Bundesrepublik ausschließlich nach dem Sulfitverfahren gearbeitet wird, überwiegt weltweit das Sulfatverfahren. Die nach dem Aufschluß und bei der Reinigung des Zellstoffes anfallenden Abfall- und Nebenprodukte, die ohne geeignete Verfahrensschritte ein erhebliches Umweltproblem darstellen würden, werden hauptsächlich den folgenden Verwendungszwecken zugeführt:

- Rückführung der im Prozeß erforderlichen Chemikalien;
- Verbrennung der nicht kommerzialisierbaren Nebenprodukte (hauptsächlich Lignin und Hemicellulosen);
- Abtrennung und Verkauf von Nebenprodukten, soweit wirtschaftlich.

Da die Eindampfung der Sulfitablaugen bei stark sauren pH-Werten erfolgt, geht die enthaltene Essigsäure zusammen mit anderen flüchtigen Substanzen in das Destillat, das sogenannte Brüdenkondensat, über. Diese Essigsäure stammt aus Acetylgruppen, die beim Kochprozeß hydrolytisch von den Holzbestandteilen, z.B. den Hemicellulosen, abgespalten werden. Weitere Bestandteile sind Methanol, das aus Methoxylgruppen stammt, und Furfural (veraltete Bezeichnung: Furfurol), das durch die im Säuren erfolgende Dehydratisierung von Pentosen entsteht. Die beim Destillieren überführte

schweflige Säure ist als Hydrogensulfit gelöst. Der Anteil der Essigsäure an der CSB-Belastung beträgt 55 ...75 % (14). Die Reduktion des relativ hohen CSB-Wertes von ca. 15 g/l ist ein vordringliches Problem der Zellstoffindustrie. Hierfür sind bisher im wesentlichen drei Verfahren bekannt:

- Neutralisation der Sulfitablaue vor der Eindampfung der Kochsäure. Das Acetat verbleibt bei der Destillation im Sumpf (15).
- Extraktion der Essigsäure und des Furfurals nach einem speziellen Verfahren (16).
- Biologischer Abbau der Restbestandteile des Abwassers. Die anaerobe Fermentation ist hierfür ein besonders vorteilhaftes Verfahren, da das gewonnene Biogas die Energiebilanz des Prozesses erheblich verbessert und nur wenig Klärschlamm anfällt.

Ein für Forschungszwecke besonderer Vorteil ist darin zu sehen, daß dieses "destillierte Abwasser" sehr gut definiert ist und die Zusammensetzung nur geringen Schwankungen unterliegt.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Reinigung der Abwässer durch anaerobe Fermentation.

Kapitel II

PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG

Ein wesentliches Problem der Abwasserentsorgung von Zellstofffabriken entsteht durch die im Brüdenkondensat enthaltene Essigsäure, wie in der Einleitung ausführlicher beschrieben wurde. Zu Beginn dieser Arbeit lagen erste Ergebnisse mit einer Reinkultur von *Methanosarcina barkeri* vor, einem strikt anaerob lebenden Bakterium, das Essigsäure direkt zu Methan und Kohlendioxid umsetzen kann (17).

Die zu jener Zeit vorliegenden Versuche zeigten lediglich die Verwertbarkeit von Acetat bei Verwendung eines Substrates mit Methanol und Acetat und waren zudem nur im Labormaßstab durchgeführt worden. Daher galt es, die prinzipielle Anwendbarkeit auf Lösungen, die dem Brüdenkondensat entsprechen, zu überprüfen. Zugunsten einer möglichst guten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurde jedoch zunächst auf die Verwendung von Brüdenkondensat verzichtet. Stattdessen wurde ein synthetisches Medium verwendet, das neben den erforderlichen Nährstoffen Essigsäure als einzige C-Quelle enthielt.

Auf den direkten Einsatz des Brüdenkondensats konnte auch unter einem weiteren Aspekt verzichtet werden: Parallel zur vorliegenden Arbeit erfolgten andere Versuche, deren Ziel die Anreicherung einer Kultur aus Klärschlamm war, die optimal an das Brüdenkondensat angepaßt ist (20). Die gleichzeitige Durchführung dieser Untersuchungen wurde als der beste Weg erachtet, um einer Lösung des "Essigsäureproblems der Zellstoffindustrie" näher zu kommen. Die Synthese der Ergebnisse beider Arbeiten sollte dann die industrielle Anwendbarkeit dieses Verfahrens unter Beweis stellen.

Die Zielsetzung dieser Arbeit ist die Untersuchung eines anaeroben Fermentations-Verfahrens unter reaktionstechnischen Gesichtspunkten. Dabei werden die folgenden Schwerpunkte gesetzt:

- Übertragung der Fermentation in kontinuierliche Betriebsweise.
- Möglichst gut definierte Prozeßbedingungen. Das gilt sowohl für das Nährmedium, ein dem Brüdenkondensat ähnliches synthetisches Substrat, als auch für die Mikroorganismen. Daher wurden die Arbeiten mit einer Reinkultur begonnen.
- Bestimmung prozeßrelevanter Größen und kinetischer Parameter.
- Durchführung von Modellrechnungen zur Reaktorwahl unter besonderer Berücksichtigung des pH-Wertverlaufes.
- Aufbau und Betrieb einer Technikumsanlage mit einem Arbeitsvolumen von mindestens 100 l.
- Rechnergekoppelte Datenerfassung und Rückgabe von Parametern vom Rechner an die Anlage.
- Untersuchungen zur Biomasserückhaltung mit einem rotierenden Filter.

Kapitel III

THEORETISCHE GRUNDLAGEN

3.1 MIKROBIELLE METHANBILDUNG

Die Bildung von Methan aus organischen Substraten erfolgt in der Natur durch Mikroorganismen, die unter Ausschluß von Sauerstoff leben. Die Sedimentschichten vieler Gewässer, Sümpfe und Tundren, aber auch die Pansen von Wiederkäuern sind wichtige Standorte mit geeigneten Umweltbedingungen (21). Außerdem ist ihr Vorkommen in Faultürmen von Kläranlagen von großer Bedeutung für die Abfallbeseitigung. Die Umsetzung komplexer Kohlenstoffverbindungen erfolgt in mehreren Stufen unter Beteiligung von verschiedenen Bakterienstämmen (22). Die in Sümpfen und auch in den Faulbehältern vorkommende Reaktionsfolge unterteilt man in drei Stufen (23):

1. Hydrolyse der Biopolymere zu ihren monomolekularen Bausteinen und deren Zersetzung zu niederen Fettsäuren und Alkoholen. Die für diese Stufe verantwortlichen Organismen werden auch acidogene Bakterien genannt, da sie organische Säuren produzieren.
2. Umsetzung der Fettsäuren und Alkohole zu Essigsäure, Wasserstoff und Kohlendioxid. Diese Bakterien werden auch acetogen genannt, da Essigsäure das Hauptprodukt ihres Stoffwechsels ist.
3. Bildung von Methan aus Kohlendioxid/Wasserstoff, Methanol und Essigsäure. Hier spricht man von methanogenen Bakterien.

Die folgenden Betrachtungen beziehen sich nur auf die letzte Stufe, die eigentliche Methanogenese.

Bei der Methanogenese handelt es sich um eine Gärung im strengen Sinn, da der im Stoffwechsel entstehende Wasserstoff (in Form von NADH) auf organische H-Acceptoren übertragen wird (24). Man spricht von chemolithotrophen Bakterien, da die Energiegewinnung der Zelle durch Redox-Reaktionen mit den Substraten erfolgt und sie die Fähigkeit haben, anorganische H-Donatoren (z.B. Wasserstoff) zu nutzen.

Die folgenden Substrate können direkt zu Methan umgesetzt werden: Kohlendioxid/Wasserstoff, Formiat, Acetat, Methanol und Methylamine. Dabei treten Methan und Kohlendioxid neben einem geringen Anteil von Biomasse als einzige Stoffwechselprodukte auf.

Da die Essigsäure bei der Umsetzung komplexer Moleküle ein wichtiges Zwischenprodukt ist, ist davon auszugehen, daß einige Bakterien existieren, die Acetat zu Methan umsetzen können. Dennoch konnte man bisher nur wenige dieser Stämme als Reinkultur isolieren. Ein wichtiger Vertreter ist das Bakterium Methanosarcina barkeri (25).

Die Spezies *M. barkeri* von der Gattung *Methanosarcina* ist der einzige bekannte Vertreter der Familie *Methanosarcinaceae* (26). Diese wiederum zählt zur Ordnung der Methanomikroben. Sämtliche Methanbakterien zählen zu den sog. Archaeobakterien und bilden einen sehr alten Zweig der Lebewesen, der sich vermutlich seit "Urzeiten" kaum verändert hat (27). *M. barkeri* besteht aus gram-positiven Kokken, die sich zu Zellaggregaten variierender Größe zusammenschließen. Die Zellwand dieser Bakterien enthält kein Murein, so daß deren Wachstum nicht durch Hemmstoffe der Mureinsynthese, wie Penicillin oder Cycloserin, beeinflusst wird (28). Sie können nur unter strikt anaeroben Bedingungen leben und benötigen ein Redoxpotential, das nicht größer als ca. -300 mV ist (29).

Besondere Beachtung verdient der Energiestoffwechsel der Methanbakterien. Bei dem Abbau von Essigsäure zu Methan und Kohlendioxid verbleiben mehr als 95 % der Bindungsenergie in den Produkten, unter Standardbedingungen beträgt der Energiegewinn lediglich 31.0 kJ/mol. Für die Bildung von ATP, dem Schlüssel-molekül des Energiestoffwechsels jeder Zelle, aus ADP geht man jedoch von einem Energiebedarf von mindestens 50 kJ/mol aus, so daß die Spaltung eines Essigsäure-moleküls nicht einmal für die Synthese von einem ATP-Molekül ausreicht (25). Der genaue Mechanismus der ATP-Synthese in methanogenen Bakterien ist noch nicht geklärt. Es wird ein chemiosmotischer Mechanismus diskutiert, bei dem durch mehrere Reaktionen an einer Membran ein Protonenpotential aufgebaut wird.

Ebenso ist der enzymatische Weg der Methanbildung noch nicht völlig geklärt. An dieser Stelle seien lediglich zwei Coenzyme genannt, deren Beteiligung bei der Bildung von Methan gesichert ist. Coenzym M (Co M) tritt als Träger einer Methylgruppe auf (30) und kann als eine Zwischenverbindung in einen von Barker formulierten Metabolismus eingefügt werden (31), (32). Außerdem ist ein fluoreszierendes Coenzym, der Faktor 420, eine signifikante Verbindung der methanogenen Bakterien (33), (34). Die bei Anregung durch UV-Licht bei 420 nm auftretende Fluoreszenz des reduzierten Coenzym F 420 wird genutzt, um methanbildende Bakterien mit Hilfe eines Fluoreszenz-Mikroskopes zu identifizieren (35). Der Faktor 420 hat für mehrere Wasserstoff-Übertragungsreaktionen die Aufgabe eines Elektronenträgers mit niedrigem Redoxpotential (36).

Ein neuer hypothetischer Mechanismus der acetotrophen Methanogenese wird von Huser (37) diskutiert. Darin wird neben der chemiosmotischen ATP-Synthese ein membrangekoppelter Abbau der Essigsäure angenommen. Faktor 420, NADP und Cytochrom b treten als Cofaktoren bei der Protonen- und Elektronenübertragung auf.

Eine andere Gruppe obligat anaerober Bakterien, die sog. Sulfatreduzierer, sind bei der Methanogenese für die Einstellung der Milieubedingungen von Bedeutung. Diese Gruppe umfaßt die Spezies *Desulfovibrio* und *Desulfotomaculum*. Das Sulfat (oder auch Sulfit) dient als H-Acceptor und wird durch eine dissimilatorische Reduktion in Schwefelwasserstoff überführt (25).

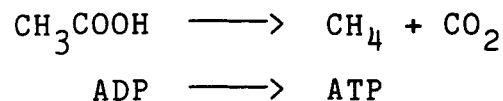
Diese Bakterien leben unter den gleichen Milieubedingungen wie die methanogenen und sind in zweierlei Hinsicht von

Bedeutung: Zum einen sorgen sie durch die Ausscheidung von Sulfid für ein genügend niedriges Redoxpotential. Zum anderen benötigen einige Bakterien, wie z.B. auch *M. barkeri*, Sulfid als Schwefelquelle für ihren Stoffwechsel (18). Zu hohe Sulfidkonzentrationen, die durch ein zu großes Sulfatangebot entstehen können, inhibieren die Methanogenese jedoch (38).

3.2 KINETIK DES ESSIGSÄUREABBAUS UND DES ZELLWACHSTUMS

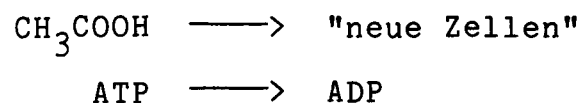
Bei der Aufstellung einer reaktionskinetischen Gleichung für den Essigsäureabbau, die auf der Grundlage der Monod-Kinetik (39) erfolgt, müssen prinzipiell drei verschiedene Reaktionswege unterschieden werden:

1. Bildung von Biogas zur Deckung des Energiebedarfes der Zelle.



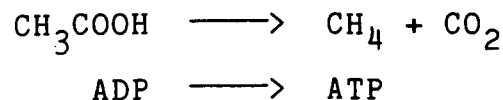
$$\text{Gl. 3.1} \quad r_{S1} = - \frac{dS1}{dt} = \frac{v_{\max 1} * S}{k_{S1} + S} * X$$

2. Inkorporation von Essigsäure für das Zellwachstum.



$$\text{Gl. 3.2} \quad r_{S2} = - \frac{dS2}{dt} = \frac{k_{\text{inc}}/Y_{X/S} * S}{k_{S2} + S} * X$$

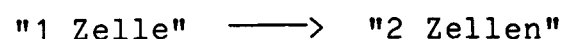
3. Verbrauch von Essigsäure für den Erhalt der Zellen ("Maintenance"). Unter der Maintenance ist derjenige Anteil des Substrates zu verstehen, der noch umgesetzt wird, wenn kein Zellwachstum mehr erfolgt.



$$\text{Gl. 3.3} \quad r_{S3} = - \frac{dS3}{dt} = m * X$$

Für die Änderung der Biomasse müssen zwei Prozesse berücksichtigt werden:

1. Zunahme der Biomasse durch Zellwachstum.



$$\text{Gl. 3.4} \quad r_{B1} = \frac{\mu_{\max} * S}{k_{S2} + S} * X$$

2. Abnahme der aktiven Biomasse durch lysierende Zellen.

"1 Zelle" \longrightarrow "tote Zellbestandteile"

$$\text{Gl. 3.5} \quad r_{B2} = -b * X$$

Die Gleichungen 3.1 bis 3.5 enthalten insgesamt acht verschiedene Parameter, deren Bestimmung nur mit einer Vielzahl von aussagekräftigen Messungen möglich wäre. Daher ist es zweckmäßig, einzelne Parameter sinnvoll zusammenzufassen. Die daraus resultierenden Gleichungen ermöglichen zwar nicht die Untersuchung einzelner Reaktionswege, sind jedoch für technische Anwendungen von größerer Bedeutung. Folgende Vereinfachungen werden vorgenommen:

- Für den Energiestoffwechsel und das Wachstum wird eine Sättigungskonstante angenommen:

$$k_S = k_{S1} = k_{S2}$$

$$\begin{aligned} \text{Gl. 3.6} \quad r_S &= -dS/dt = r_{S1} + r_{S2} + r_{S3} \\ &= \frac{(v_{\max}' + k_{inc}/Y_{X/S}) * S}{k_S + S} * X + m * X \end{aligned}$$

- Der Term für die Geschwindigkeitskonstante wird zu einem Parameter zusammengefaßt:

$$\text{Gl. 3.7} \quad r_S = \frac{v_{\max} * S}{k_S + S} * X + m * X$$

- Die Maintenance wird zunächst als vernachlässigbar klein betrachtet.

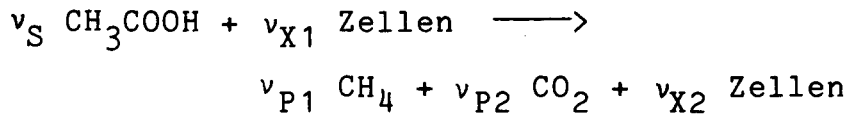
$$\text{Gl. 3.8} \quad r_S = \frac{v_{\max} * S}{k_S + S} * X$$

- In der Regel ist die Anzahl der lysierenden Zellen sehr viel kleiner als die Anzahl der sich teilenden Zellen, so daß auch die Gleichung 3.5 vernachlässigbar wird. Die unbekannte Absterberate ist somit latent in der Wachstumsrate enthalten.

$$\text{Gl. 3.9} \quad r_B = \frac{\mu_{\max} * S}{k_S + S} * X$$

Die Gleichungen 3.8 und 3.9 enthalten nur noch drei kinetische Parameter und stellen die einfachste Form der Kinetik dar. Die Auswertung von Messungen muß zeigen, ob diese Gleichungen bereits für eine zufriedenstellende Beschreibung des Systems ausreichen.

Eine verallgemeinerte Form der Geschwindigkeitsgleichungen sei hier noch unter chemischen Gesichtspunkten angefügt. Grundsätzlich gehören mikrobielle Umsetzungen zu den autokatalytischen Reaktionen, das heißt, daß ein Produkt als Reaktand auftritt bzw. die Reaktion beschleunigt. Für die Methanogenese von Essigsäure ergibt sich die folgende "Reaktionsgleichung":



Dabei ergeben sich jedoch Besonderheiten für die stöchiometrischen Koeffizienten:

Essigsäure $\nu_S = -1$

Biomasse $\nu_X = \nu_{X2} - \nu_{X1}$

$$\nu_X = Y_{X/S}$$

Da es unzweckmässig ist, die Biomassekonzentration in mol/l anzugeben, wird hier ein dimensionsbehafteter Koeffizient eingeführt, der dem molaren Ertragskoeffizienten entspricht und die Dimension g Zellen pro mol Essigsäure hat.

Biogas $\nu_{P1} = \nu_{P2} = 1 - f_1 * Y_{X/S} / (f_2 * M_C)$
 $(f_1 = 0.5 \text{ g}_C/\text{g}_X; f_2 = 2 \text{ mol}_C/\text{mol}_S)$

Die stöchiometrischen Koeffizienten für Methan und Kohlendioxid müssen um den entsprechenden Anteil verringert werden, wobei hier von einem C-Anteil von 50 % in der Zelltrockenmasse ausgegangen wird. Außerdem ist zu berücksichtigen, daß pro Mol Essigsäure 2 Mole C zur Verfügung stehen.

Aus der allgemeinen Definition des Umsatzes für Reaktionen mit Volumenkonstanz und der Reaktionsgeschwindigkeit ergibt sich für die Variablentransformation:

Gl. 3.10 $c_i = c_{i0} - \nu_i / \nu_S * S_0 * U$ und

Gl. 3.11 $r_i = \frac{1}{\nu_i} * \frac{dc_i}{dt} = - \frac{S_0}{\nu_S} * \frac{dU}{dt}$

Aus den Gleichungen 3.8 und 3.9 erhält man die folgenden Geschwindigkeitsgleichungen:

Gl. 3.12 $\frac{dU}{dt} = \frac{\nu_{\max} * (1-U) * (X_0 + Y_{X/S} * S_0 * U)}{k_S + S_0 * (1-U)}$

Gl. 3.13 $\frac{dU}{dt} = \frac{\mu_{\max} / Y_{X/S} * (1-U) * (X_0 + Y_{X/S} * S_0 * U)}{k_S + S_0 * (1-U)}$

In dieser Darstellung wird die Biomasse als "normaler" Reaktand behandelt:

$$X = X_0 + Y_{X/S} * S_0 * U$$

Unter der Voraussetzung, daß man bei der Auswertung die gleichen Sättigungskonstanten für Biogasbildung und Wachstum erhält, ergibt sich also der folgende Zusammenhang:

$$\text{Gl. 3.14} \quad \mu_{\max} = v_{\max} * Y_{X/S}$$

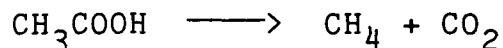
Die Gleichungen 3.12 und 3.13 stellen eine verallgemeinerte Form der vereinfachten Kinetik dar und sind für die Programmierung besser geeignet als die Gleichungen 3.8 und 3.9. Mit Gleichung 3.14 hat man ein sehr gutes Kriterium für die Zulässigkeit der Vereinfachungen, wenn die Parameter zuvor nach verschiedenen Methoden bestimmt wurden. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß Gleichung 3.14 nur gilt, wenn Energiestoffwechsel und Wachstum streng gekoppelt sind.

3.3 PH-WERTVERLAUF UND -BERECHNUNGEN

Alle biochemischen Reaktionen erfolgen in wäßrigen Lösungen und werden vom pH-Wert der jeweiligen Lösung stark beeinflußt. Betrachtet man die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit vom pH-Wert, so erhält man ein Kurvenbild, das dem Verlauf einer nach unten geöffneten Parabel ähnelt, deren Maximum (= pH-Optimum) in der Regel nahe dem Neutralpunkt (pH 7) liegt. Jede enzymatische Reaktion als Elementarschritt von biochemischen Umsetzungen hat ein solches pH-Optimum.

Der Stoffwechsel lebender Zellen erfolgt durch eine Vielzahl derartiger Reaktionen, die sich in einem kybernetischen Netz von Fließgleichgewichten gegenseitig beeinflussen. Dadurch erhält man auf der Ebene einzelner Zellen übergeordnete pH-Optima bezüglich bestimmter Vorgänge, wie z.B. dem Zellwachstum.

Bei der biotechnologischen Anwendung erhalten diese Eigenschaften besondere Bedeutung, wenn einzelne Zellen aus einem symbiotischen Zellverband isoliert werden, wie es z.B. beim Einsatz methanogener Bakterien für den Essigsäureabbau geschieht. In der Natur steht die Methanogenese stets im Gleichgewicht mit den übrigen Abbaustufen der Methanisierung komplexer Substrate, wobei eine Selbstregulation des pH-Wertes erfolgt. Demgegenüber erfolgt beim isolierten Abbau von Essigsäure eine deutliche Änderung zu höheren pH-Werten, wie die Reaktionsgleichung verdeutlicht:



Die Essigsäure wird durch die Reaktion aus der Lösung entfernt, was bezüglich des pH-Wertes der Titration mit einer starken Base entspricht. Die Dissoziation der entstehenden Kohlensäure kann diesen Effekt nur zu einem kleinen Teil kompensieren, da Kohlendioxid sich im Sauren nur schlecht löst. Somit ist es unumgänglich, bei der Methanisierung von Essigsäure geeignete Maßnahmen gegen allzu große Änderungen des pH-Wertes zu treffen.

Um die Wirksamkeit entsprechender Maßnahmen vorab zu überprüfen, ist es sehr nützlich, den pH-Wertverlauf zumindest näherungsweise zu berechnen. Derartige Berechnungen erfolgten bereits in (40) für ein anderes Reaktionssystem. Die dort angewandte Methode erwies sich jedoch als unzureichend, da der erforderliche Iterationsschritt nicht allgemein anwendbar ist.

Eine erneute Behandlung des Problems führte zu einer allgemeinen Lösung des Gleichungssystems für die pH-Wertberechnung ideal verdünnter Lösungen. Entsprechende Berechnungen sind also gültig, sofern die Konzentrationen der beteiligten Substanzen hinreichend genau mit ihren Aktivitäten übereinstimmen und keine heterogenen Gleichgewichte vorliegen. Eingangsgrößen sind die Konzentrationen der dissoziierbaren Lösungsbestandteile und die pK-Werte aller beteiligten Dissoziationsgleichgewichte, womit für jede Lösung genau ein pH-Wert berechnet werden kann. Das stimmt mit der Erfahrung überein, daß jeder wäßrigen Lösung eindeutig ein pH-Wert zugeordnet ist, der unabhängig von der "Vorgeschichte" der Lösung ist.

Die Herleitung der Bestimmungsgleichung befindet sich im Anhang A. Die Lösung der Gleichung muß durch eine iterative Nullstellenbestimmung erfolgen, da sie nicht in die explizite Form umgewandelt werden kann.

Für die Berechnungen wurden mehrere Computerprogramme entwickelt, die in FORTRAN geschrieben sind. Sie sind für die Lösung verschiedener Problemstellungen geeignet:

AKPHCO Berechnung der Anionen-/Kationenkonzentration einer wäßrigen Lösung bei gegebenem pH-Wert
PHAKCO Berechnung des pH-Wertes einer wäßrigen Lösung bei gegebener Anionen-/Kationenkonzentration
PHTITR Berechnung einer pH-Titrationskurve unter Berücksichtigung der Verdünnung der Lösung
PHUMCO Programm zur Berechnung von pH-Umsatzkurven
BEREKO Berechnung der Relativkonzentrationen einer n-basisigen Säure bei verschiedenen pH-Werten

Von diesen Programmen werden die folgenden Unterprogramme aufgerufen (Details siehe Anhang A):

PHWBER pH-Wertberechnung für wäßrige Lösungen mit max. 10 dissoziierenden Komponenten unter Berücksichtigung der Kohlendioxidlöslichkeit
FPH Berechnung der Funktion $F(\text{pH})$ für die iterative Bestimmung des pH-Wertes; Aufruf durch die IMSL-Routine ZREAL1
FPHCO2 Berechnung der Funktionen $F(\text{pH})$ und $c(\text{CO}_2, \text{total})$ für die iterative Bestimmung des pH-Wertes; Aufruf durch die IMSL-Routine ZSCNT
PHLIM stufenweise Begrenzung des pH-Wertes zur Vermeidung von Bereichsüberschreitungen in der Funktion $f(\text{pH})$
INPHCO Eingabe der Parameter für pH-Wertberechnungen
OUPHAK Ausgabe einer Tabelle mit Parametern und dem pH-Wert
F1PHV2 Berechnung der Funktion $F1(\text{pH})$ ("Doppelsumme") für eine wäßrige Lösung mit max. 10 dissoziierenden Komponenten
CO2TOT Berechnung der Kohlensäure-Totalkonzentration bei gegebener Löslichkeit und gegebenem pH-Wert
RELKON Berechnung der relativen Konzentrationen $c(\text{I})/c(\text{total})$ für ein n-basisiges Dissoziationsgleichgewicht; $n(\text{max})=10$

Die Berechnung einzelner pH-Werte erfolgt stets durch die Subroutine PHWBER, die auch in anderen Programmen benutzt werden kann. Dabei werden für die Iterationen Bibliotheksprogramme benutzt (siehe Anhang A).

Abb. 1 zeigt die Funktionstüchtigkeit dieser Berechnungsmethode am Beispiel der Titration einer Essigsäurelösung mit Natronlauge. Geringe Abweichungen können durch Ungenauigkeiten der pK -Werte, die Gmelin's Handbuch der anorganischen Chemie (41) entnommen wurden, oder durch kleine Konzentrationsabweichungen der verwendeten Lösungen entstehen.

Eine ausführliche Darstellung zur Chemie in wäßrigen Lösungen findet man in (42), wo auch einige Berechnungsmethoden gezeigt werden. Die im Anhang gezeigte Methode hat den Vorteil, daß sie unter den genannten Randbedingungen allgemein anwendbar ist für die exakte Berechnung von pH-Werten. Es ist nicht erforderlich, nach Säuren, Basen oder Ampholyten

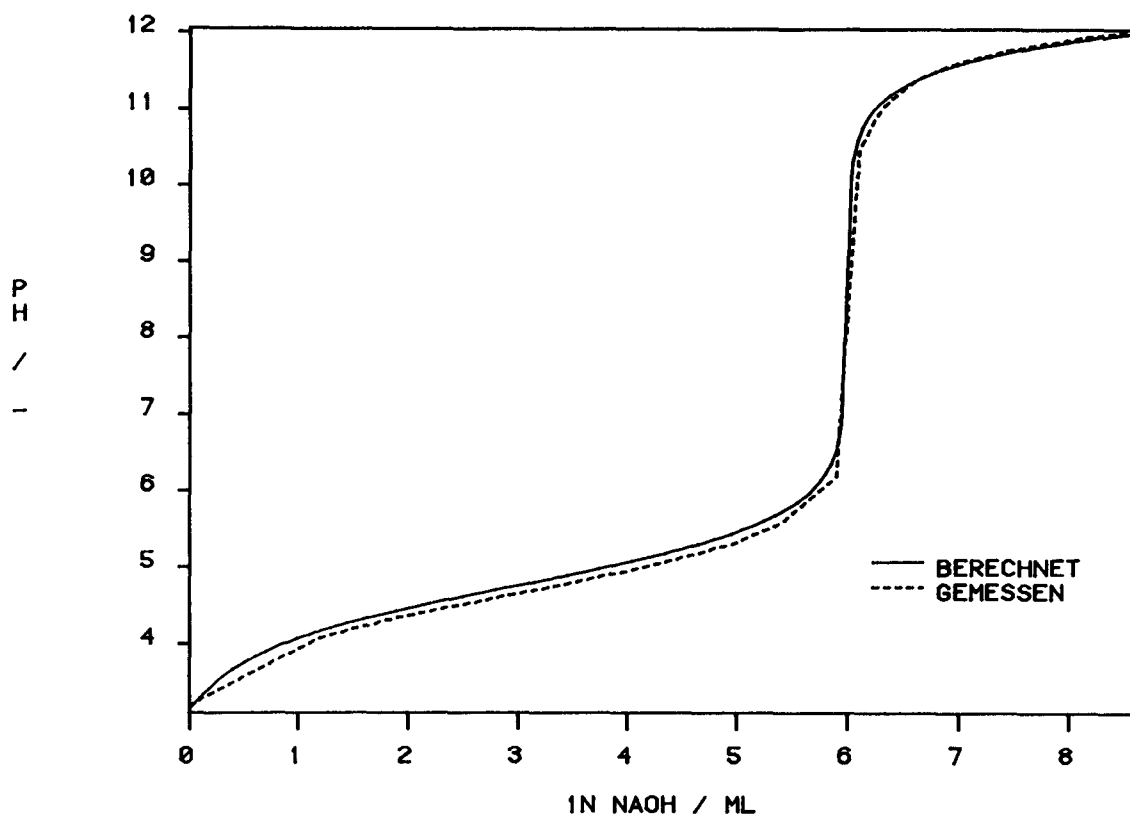


Abb. 1: Titration von Essigsäure mit Natronlauge

verwendete Daten:

Komponente	C / mol/l	pK-Werte
Wasser		14.00
Essigsäure	0.03	4.76
Titersubstanz: 1.0 mol/l NaOH		
Temperatur: 25°C		

zu unterscheiden. Auf spezielle Näherungen wurde bewußt verzichtet, da mit Hilfe der heute weit verbreiteten Computer die numerische Lösung komplizierter Gleichungen in der Regel keine Probleme bereitet.

Enthält eine Lösung Bestandteile, die in einem Lösungsgleichgewicht mit der Gasphase stehen und an einem Dissoziationsgleichgewicht beteiligt sind, wie es z.B. für Kohlendioxid der Fall ist, so muß das bei der pH-Wertberechnung zusätzlich berücksichtigt werden. Außerdem ist die Löslichkeit dann auch vom pH-Wert abhängig. Diese Eigenschaft muß für die Berechnung mathematisch beschrieben werden. Die folgende Betrachtung beschränkt sich auf Kohlendioxid, kann

jedoch prinzipiell auf andere Substanzen, z.B. Ammoniak, übertragen werden.
Die Löslichkeit von Kohlendioxid in Wasser hängt von drei Größen ab:

- Partialdruck des CO_2 in der Gasphase;
- Henry-Koeffizient (41, S. 47) für das Gleichgewicht $(\text{CO}_2)_g/(\text{CO}_2)_{\text{aq}}$;
- pH-Wert der Lösung.

Das Henry-Gesetz ist eigentlich nur für Gase geringer Löslichkeit im Bereich niedriger Konzentrationen gültig (43) und für Kohlendioxid nur bei kleinen pH-Werten anwendbar. Für die mathematische Beschreibung wurde jedoch die Voraussetzung gemacht, daß das Henry-Gesetz im gesamten pH-Bereich seine Gültigkeit behält, wenn man lediglich den physikalisch gelösten Anteil des Gases betrachtet. Darunter ist das hydratisierte Kohlendioxid zu verstehen, das zwar gelöst ist, jedoch nicht mit Wasser zur Kohlensäure und weiter zum Hydrogencarbonat und Carbonat reagiert hat.

Die Zunahme der Löslichkeit bei steigendem pH-Wert ergibt sich dementsprechend durch die Reaktion von Kohlendioxid und Wasser zu der sehr instabilen Kohlensäure, die sofort zum Hydrogencarbonat und mit weiter steigendem pH-Wert zum Carbonat dissoziiert. Die mathematische Formulierung befindet sich ebenfalls im Anhang A.

Bei dem Versuch, die Titrationskurve für eine Carbonatlösung zu berechnen, ergeben sich Probleme, da sich das Lösungsgleichgewicht für Kohlendioxid nur sehr langsam einstellt. Dieser Effekt ist auf die Stabilität übersättigter Lösungen zurückzuführen (41, S. 42). Bei der pH-Erniedrigung, deren Wirkung man hier mit einer Druckentlastung vergleichen kann, findet in der übersättigten Lösung keine spontane Blasenbildung statt, da diese nur an Keimen oder Kernen erfolgt.

In Abb. 2 sind für die Titration einer Carbonatlösung mit Salzsäure drei Kurven dargestellt:

1. Bei der ersten Berechnung der Titrationskurve wurde die Löslichkeit des Kohlendioxids berücksichtigt, das heißt, daß dessen Konzentration die Sättigungskonzentration nicht überschreitet. Es wurde also von einer spontanen Ausgasung ausgegangen.
Im Alkalischen ist die Lösung zunächst nicht gesättigt. Nachdem bei einem pH-Wert von ca. 6.2 der Sättigungspunkt erreicht wird, erfolgt der pH-Abfall zunächst wesentlich langsamer, da die hinzukommenden Protonen für die Bildung von Kohlensäure, die sofort dehydratisiert, verbraucht werden. Der krasse Übergang resultiert aus der Annahme eines konstanten Partialdruckes des Kohlendioxids über der Lösung.
2. Berechnet man die Titrationskurve ohne die Berücksichtigung einer Übersättigung der Lösung, so erhält man bei dem pH-Wert von ca. 6.2 einen normalen Äquivalenzpunkt, der der zweiten Dissoziationskonstanten der Kohlensäure entspricht.

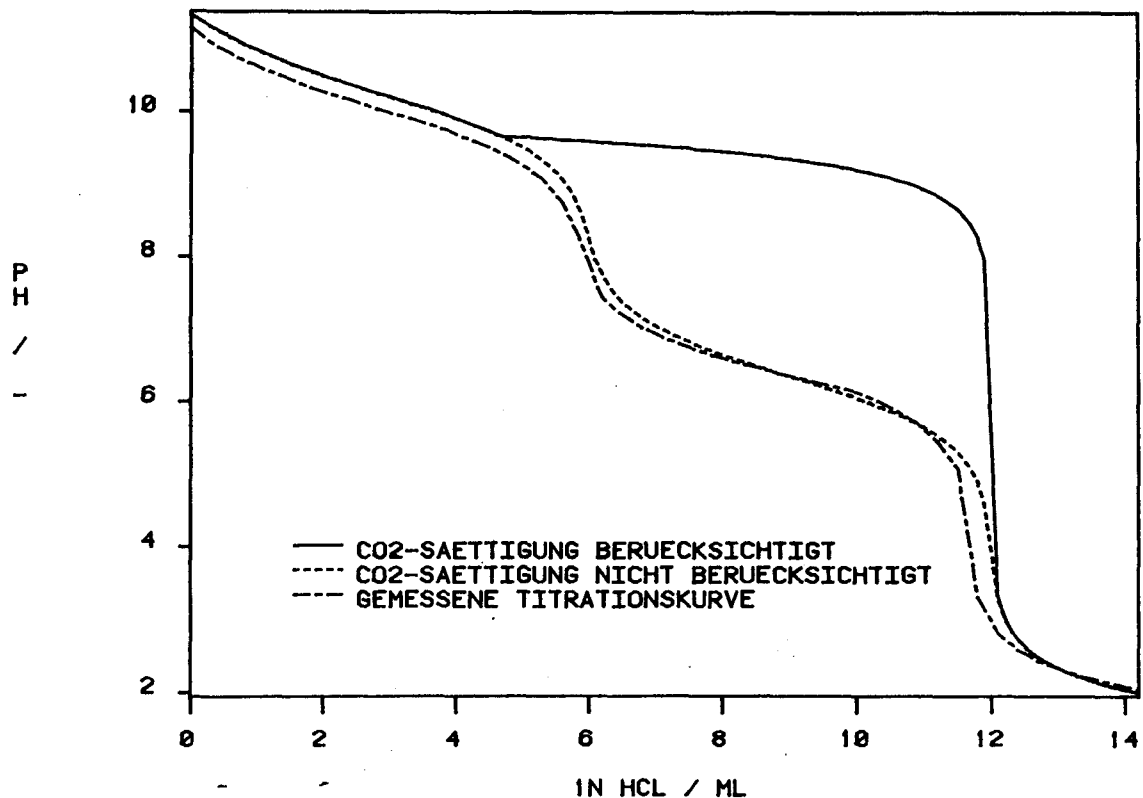


Abb. 2: Titration einer Carbonatlösung mit HCl

verwendete Daten:

Komponente	C / mol/l	pK-Werte	
Wasser		14.00	
Kohlensäure	0.03	6.35	10.21
NaOH	0.06		
CO ₂ :	Henry-Konstante	0.034	mol/(l*bar)
	Partialdruck	0.33	mbar (für Luft)
Titrsubstanz: 1.0 mol/l HCl			
Temperatur: 25°C			

3. Die gemessene Titrationskurve stimmt ungefähr mit der zweiten Kurve überein. Das bedeutet, daß während der Titration trotz Übersättigung kein Kohlendioxid ausgegast war, was auch der Beobachtung entsprach. Um den Partialdruck konstant zu halten, wurde die Lösung mit Preßluft überströmt. Selbst bei stärkerer Rührung und der Einbringung von Siedesteinchen erfolgte keine Ausgasung.

Das Fazit dieser Feststellungen ist, daß man bei der Berechnung von Übergangszuständen nicht von der Einstellung des Lösungsgleichgewichtes von Kohlendioxid ausgehen kann. Vielmehr müssen zeitliche Abhängigkeiten und die jeweiligen Verhältnisse in der Lösung berücksichtigt werden, da die Gleichgewichtseinstellung von mehreren Parametern, wie z.B. der Elektrolytkonzentration beeinträchtigt wird. Für stationäre Zustände kann hingegen mit der Einstellung des Gleichgewichtes gerechnet werden.

Bei der Berechnung des pH-Wertverlaufes für Batch-Kulturen oder nicht stationäre Zustände muß außerdem berücksichtigt werden, daß der Partialdruck des Kohlendioxids nicht konstant ist. Derartige zeitabhängige Änderungen können in die Rechnung einbezogen werden, lassen sich jedoch nicht verallgemeinern, da sie von apparativen Randbedingungen abhängen. Insbesondere sind das Volumen des Gasraumes, das der Flüssigkeit und die Frage, ob ein offenes oder ein geschlossenes System vorliegt (Druckkonstanz), zu berücksichtigen. Der Partialdruck ist bei solchen dynamischen Berechnungen eine Größe, die auch von der "Vorgeschichte" des jeweiligen Prozeßzustandes abhängt.

3.4 MODELLRECHNUNGEN ZUR REAKTORAUSLEGUNG

Die Produktion von Biogas ist nicht nur erdgeschichtlich ein alter Prozeß, sondern auch den Menschen schon seit längerer Zeit bekannt. Besonders in den wärmeren Klimazonen, wie z.B. Indien oder Südostasien, macht man sich die Vergärung komplexer organischer Substrate schon lange zunutze. Doch auch in Mitteleuropa ist die Anwendung der anaeroben Fermentation nicht nur eine Erscheinung der letzten Jahre, wie entsprechende Literaturstellen belegen (49 ... 52).

Die entsprechenden Anlagen sind häufig sehr einfach gebaut und vornehmlich für die Anwendung in landwirtschaftlichen Betrieben ausgelegt. Den heutigen Anforderungen können sie kaum gerecht werden, besonders dann nicht, wenn es um industrielle Anwendungen geht, für die die Wirtschaftlichkeit großer Einheiten im Vordergrund steht.

Handelt es sich zusätzlich noch um Substrate mit vergleichsweise geringer Feststoff-Beladung, so sind möglichst genaue Berechnungen nach reaktionstechnischen Grundsätzen unumgänglich. Ein Extrembeispiel stellt hier das Brüdenkondensat dar, das in großer Menge feststofffrei anfällt ("destilliertes Abwasser") und Essigsäure als nahezu einzige C-Quelle enthält. Verweilzeiten von mehr als 10 Tagen, die in Anlagen der Landwirtschaft oder Kläranlagen durchaus vorkommen, sind hier wegen der erforderlichen Volumina sehr unwirtschaftlich.

Reaktionstechnisch lassen sich die vorkommenden Anlagen grob in vier Kategorien einteilen, deren Grenzen fließend sind (53):

1. Satzreaktoren,
2. kontinuierliche Reaktoren,
3. Hochleistungsreaktoren ("High-Rate Digesters"),
4. sonstige Reaktoren (z.B. anaerober Filter, anaerober Kontaktprozeß).

Die beiden ersten Kategorien umfassen nur Anlagen, bei denen das Fermentationsmedium mehr oder weniger "sich selbst überlassen bleibt". In geeigneten sauerstofffreien bzw. -armen Medien erfolgt eine anaerobe Fermentation in der Regel ohne besondere Maßnahmen und führt nach einigen Tagen zu einer weitgehenden Zersetzung der abbaubaren Substanzen. Auf Rührung und Heizung kann dabei verzichtet werden; eine gewisse Durchmischung erfolgt durch aufsteigende Gasblasen.

Unter dem Begriff Hochleistungsreaktoren werden alle jene - in der Regel kontinuierlich betriebenen - Reaktoren zusammengefaßt, bei denen durch zusätzliche Maßnahmen wie Rührung und Thermostatisierung eine Optimierung der Fermentationsbedingungen erfolgt.

In die 4. Kategorie werden die Anlagen eingeordnet, bei denen die Bakterien durch besondere Maßnahmen besser genutzt werden. Hierunter sind im wesentlichen die Methoden der Biomasserückhaltung bzw. -rückführung zu verstehen (55).

Die folgenden Betrachtungen werden sich auf Anlagen der Kategorien 3 und 4 beschränken, da für industrielle Anwendungen und insbesondere für die Behandlung von Brüdenkon-

densat nur solche in Frage kommen. Anlagen der Kategorien 1 und 2 wären hier weder praktikabel noch wirtschaftlich.

Für die Auswahl des am besten geeigneten Reaktors sind zwei Kriterien entscheidend:

1. Eine für den jeweiligen Prozeß charakteristische Qualitätsgröße muß unter technischen und wirtschaftlichen Gesichtspunkten optimiert werden.
2. Die Bauweise des Reaktors muß die Einhaltung der optimalen Reaktionsbedingungen gewährleisten.

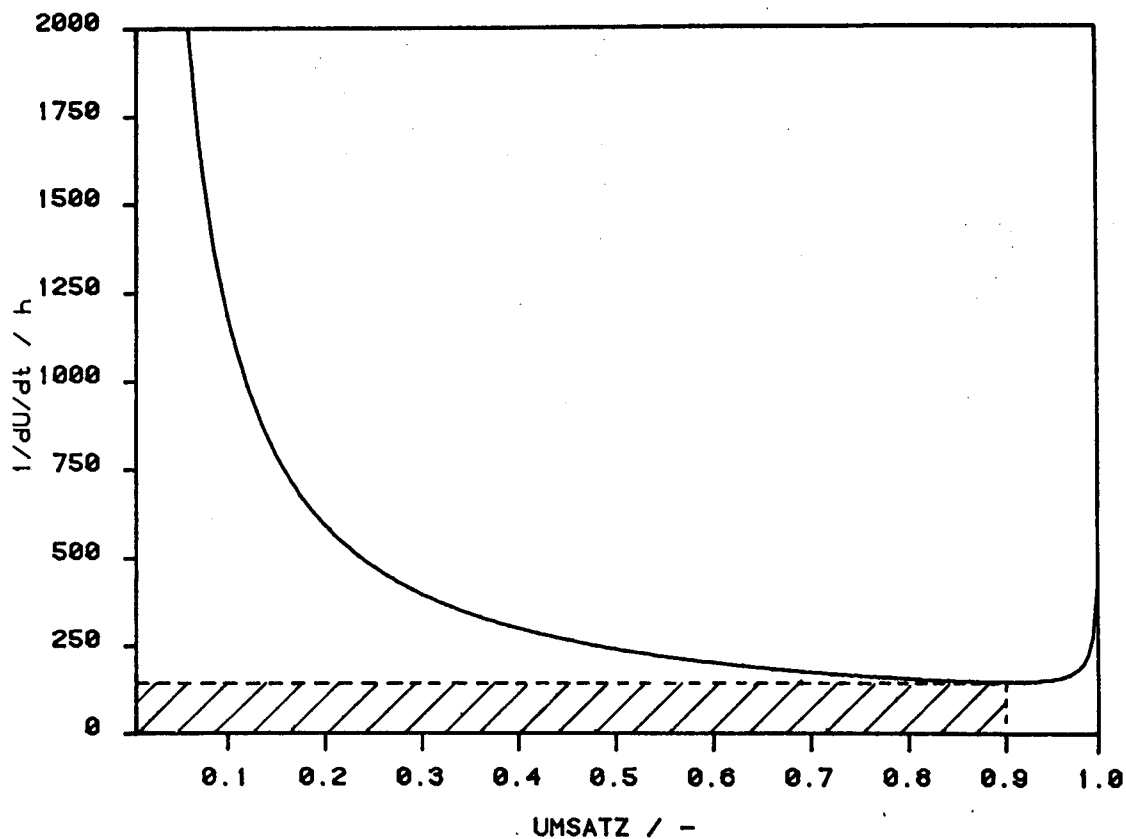


Abb. 3: Kehrwert der Reaktionsgeschwindigkeit gegen Umsatz
Reaktionsgeschwindigkeit: Gl. 3.12
Daten: Tabelle 1

Zu 1.:

Als Qualitätsgröße für die Beurteilung des Prozesses wird der Umsatz verwendet, da das primäre Ziel der Essigsäureabbau und nicht die Produktion eines Stoffes ist. Zunächst soll ein Vergleich der verschiedenen Reaktortypen unter der

TABELLE 1

Daten für Reaktorberechnungen.

Quelle: (56)

v_{\max}	=	0.0057 mol / (g*h)
X_0	=	0.0 g/l
$Y_{X/S}$	=	1.5 g/mol
k_S	=	0.004 mol/l
S_0	=	0.3 mol/l
T	=	37 °C
pH	=	6.3

Voraussetzung erfolgen, daß der pH-Wert während der Reaktion konstant bleibt.

Setzt man einen gewünschten Umsatz voraus, so kann man anhand der Reaktorgleichungen und der Geschwindigkeitsgleichung die Verweilzeit berechnen, die direkt mit dem erforderlichen Reaktionsvolumen korreliert. In Abb. 3 ist der Kehrwert der Reaktionsgeschwindigkeit (Gleichung 3.12) gegen den Umsatz aufgetragen, so daß man eine graphische Darstellung des Reaktionsvolumens erhält (54). Für die Berechnungen wurden die von Aivasidis (56) bestimmten Daten verwendet, die in Tabelle 1 zusammengefaßt sind. Für die Auslegung des Reaktors ist die Lage des Minimums in Abb. 3 ausschlaggebend, die auch von der Substratkonzentration abhängt. Es ergeben sich folgende Konsequenzen:

- Die Reaktionszeit im Satzreaktor ergibt sich durch die Integration der reziproken Reaktionsgeschwindigkeit:

$$\text{Gl. 3.15} \quad t = \int_0^U \frac{1}{(dU/dt)} dU$$

Für den Term (dU/dt) wird Gl. 3.12 oder 3.13 eingesetzt. Die Reaktionszeit ist sehr stark abhängig von der Biomaskonzentration beim Start ($t = 0$ h) der Fermentation. Zu der reinen Reaktionszeit muß noch die Zeit hinzuaddiert werden, die erforderlich ist, um den Fermenter vorzubereiten, zu füllen und nach erfolgter Reaktion zu leeren.

Die in der Zellstoff- und Papierindustrie anfallenden Volumenströme sind so groß, daß Satzreaktoren weder rentabel noch zweckmäßig sind. Sie werden lediglich beim Arbeiten im Labormaßstab eingesetzt und dienen in der Regel der Bereitstellung von Biomasse in kleineren Mengen.

- Die Berechnung der Verweilzeit im kontinuierlichen Rührkessel (CSTR) erfolgt nach

$$\text{Gl. 3.16} \quad \tau = \frac{U}{(dU/dt)}$$

In Abb. 3 entspricht die Fläche des gestrichelt eingezeichneten Rechtecks der Verweilzeit bei einem Umsatz von 0.9. Trägt man den Umsatz gegen die Verweilzeit auf, so erhält man in Abb. 4 die Kurve für den CSTR. Es ist offensichtlich, daß sich bis zu hohen Umsätzen für den CSTR das minimale Reaktionsvolumen ergibt.

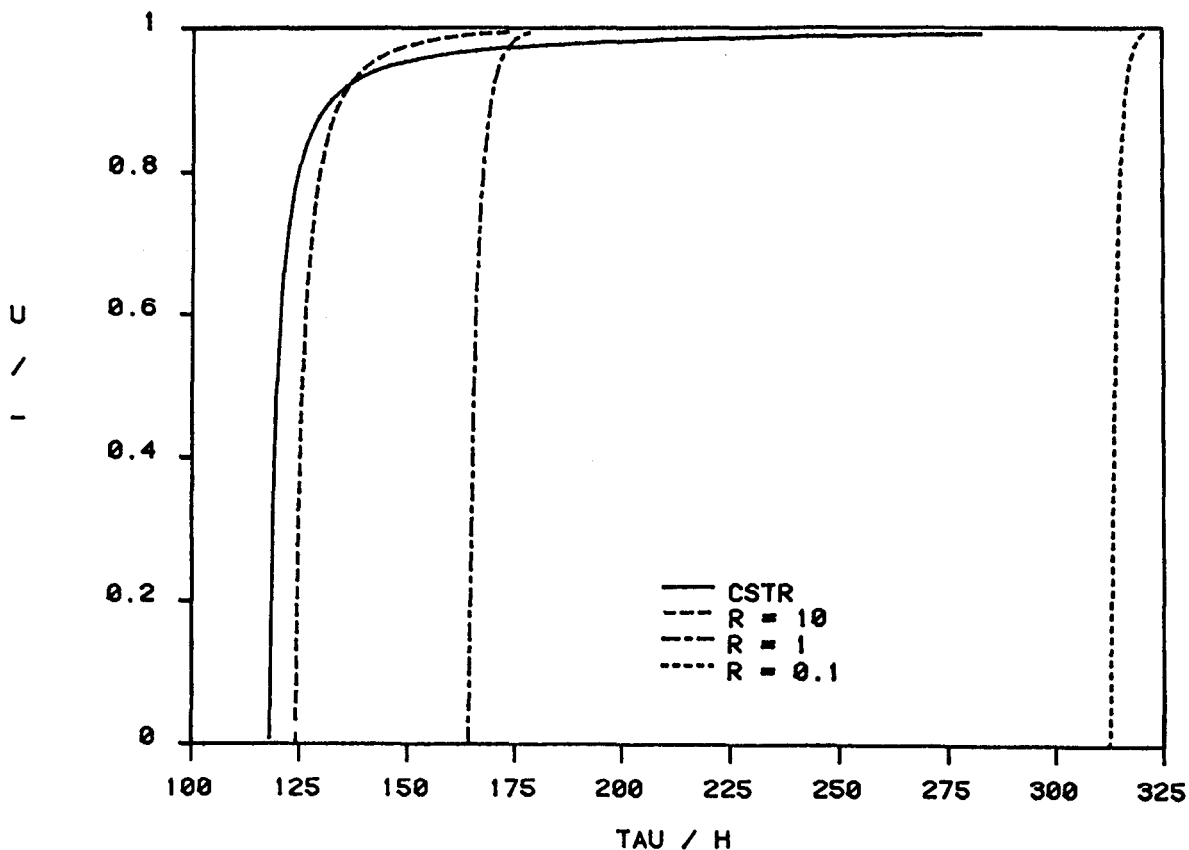


Abb. 4: Umsatz gegen Verweilzeit im Rückvermischungsreaktor (Rohrreaktor mit Rücklaufverhältnis R)

- Für den idealen Rohrreaktor ist eine Integration entsprechend Gleichung 3.15 erforderlich, wobei die Zeit t der Verweilzeit entspricht. Es ist jedoch zu beachten, daß für autokatalytische Reaktionen im Rohrreaktor nur eine Reaktion erfolgen kann, wenn bereits im Substrat ein Teil des

Katalysators (d. h. des autokatalytisch wirksamen Produktes) vorliegt, da keine Rückvermischung erfolgt. Für Fermentationen, bei denen das Substrat in aller Regel frei von Mikroorganismen ist, kann ein Rohrreaktor also nur als zweite Reaktionsstufe eingesetzt werden, da dann der Einlauf bereits Organismen enthält. Andernfalls muß eine gewisse Rückvermischung erfolgen, die durch verschiedene Effekte eintreten kann:

- * Da keine ideale Pfropfenströmung vorliegt, kann durch Mikromigration innerhalb des Rohres eine Animpfung des Einlaufes erfolgen.
- * Wenn die Bakterien schneller wachsen, als die Flüssigkeit strömt, sorgen diese durch ihre Vermehrung für eine Rückvermischung. Dieser Effekt ist vom Rohrdurchmesser abhängig und kann unter geeigneten Bedingungen auch in Substratleitungen erfolgen. Außerdem ist die Haftfähigkeit der Organismen an der Rohrwand von Bedeutung.
- * In dem sog. Rückvermischungsreaktor ("recycle-reactor") wird ein Teil des Auslaufes durch eine äußere Leitung zum Einlauf zurückgeführt, wobei das Rücklaufverhältnis R als Verhältnis von Rücklauf zu Auslauf definiert ist. Für technische Anwendungen ist nur dieser Fall relevant, da nur hier eine kontrollierte Rückvermischung erfolgt. In Abb. 4 ist für verschiedene Rücklaufverhältnisse der Umsatz gegen die Verweilzeit aufgetragen. Die Berechnung erfolgt nach

$$\text{Gl. 3.17} \quad \tau = (R+1) * \int_{R*U/(R+1)}^U \frac{1}{(dU/dt)} dU$$

(Grundlagen siehe (54)). Der Abzissenabschnitt der Kurven entspricht dem Auswaschpunkt (Wash-out), der für den Rohrreaktor ($R = 0$) im Unendlichen liegt. Durch die Form der Reaktionsgeschwindigkeitskurve (Abb. 3) nimmt das optimale Rücklaufverhältnis hohe Werte an, so daß praktisch ein CSTR (R gegen unendlich) vorliegt. Es ist jedoch beachtenswert, daß bei endlichem Rücklaufverhältnis und geeigneten Verweilzeiten höhere Umsätze zu erreichen sind (z.B. für $R=10$ bei 150 h Verweilzeit, siehe Abb. 4).

Das Resultat dieser Berechnungen ist, daß der Rührkessel mit totaler Rückvermischung der optimale Reaktor ist. Selbst bei hohen Umsätzen ist das optimale Rücklaufverhältnis so groß, daß der Einsatz eines externen Rücklaufes kaum wirtschaftlich sein dürfte.

Eine weitere Möglichkeit zur Verringerung des Reaktionsvolumens ist der Einsatz eines Rohrreaktors als zweite Reaktionsstufe. Der Rührkessel müßte dann so betrieben werden, daß der Umsatz in der ersten Stufe dem Wert des Maximums in der Reaktionsgeschwindigkeitskurve (des Minimums der Kurve in Abb. 3) entspricht. Der Aufwand für eine zweite Reaktionsstufe wird jedoch erst wirtschaftlich, wenn dieses Maximum bei niedrigerem Umsatz liegt.

Zu 2.:

Beim Essigsäureabbau ist der pH-Wert der Fermentationslösung die wichtigste Einflußgröße. Mit Hilfe der in Kapitel 3.3 vorgestellten Methode ist es möglich, den pH-Wertverlauf zu berechnen. Abb. 5 zeigt entsprechende pH-Umsatzkurven, die für verschiedene Start-pH-Werte ermittelt wurden. Für die drei grundlegenden Reaktortypen ergeben sich entsprechend der Homogenität und der Stationarität die folgenden Konsequenzen:

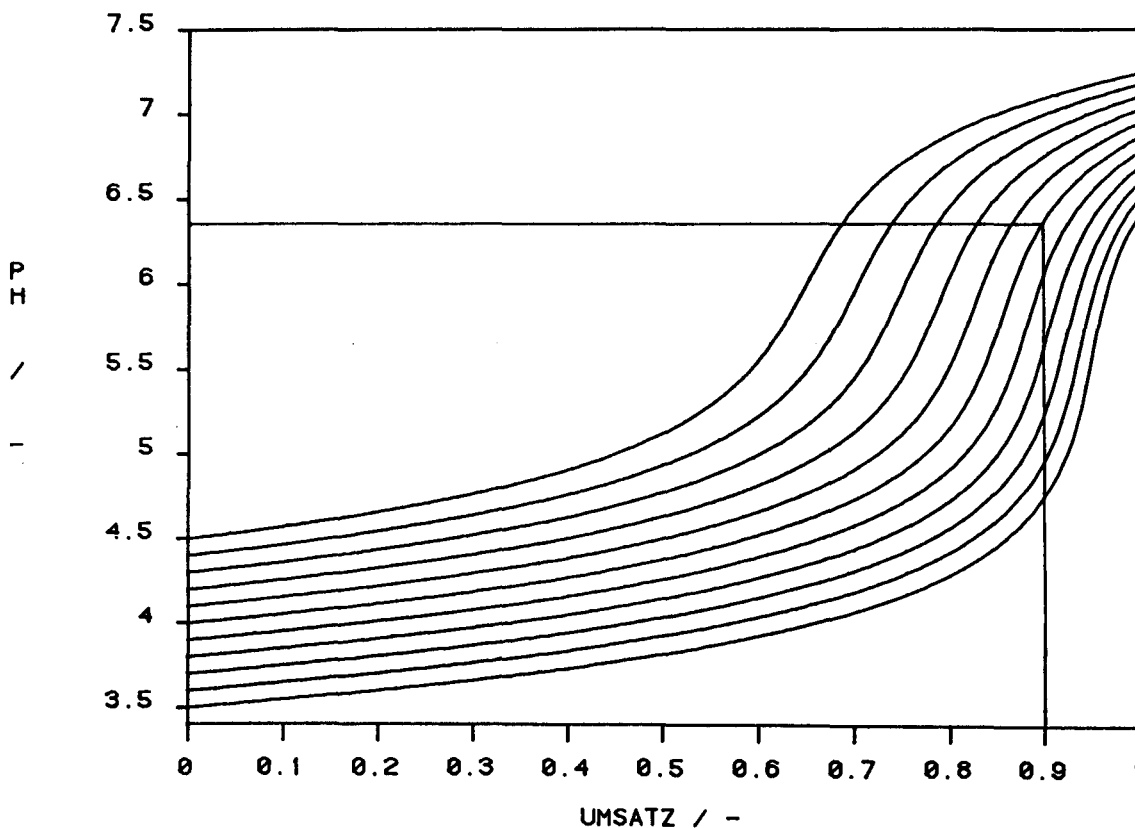


Abb. 5: pH-Umsatzkurven für Acetatabbau

verwendete Daten:

Komponente	C_0 / mol/l	ν	pK-Werte	
Wasser			13.62	
Essigsäure	0.300	-1	4.77	
Kohlensäure	0.0	1	6.30	10.24
CO ₂ :	Henry-Konstante		0.024	mol/(l*bar)
	Partialdruck		0.500	bar
Temperatur:	37°C			

- Im Satzreaktor liegt eine homogene Lösung vor, deren pH-Wert sich mit der Reaktionszeit ändert. Die Abzisse in Abb. 5 korreliert mit der Reaktionszeit. Ohne pH-regulierende Maßnahmen kann durch Bakterien nur ein geringer Umsatz erfolgen, da diese nur in einem engen pH-Bereich aktiv sind.
- Im kontinuierlichen Rührkessel liegt eine homogene Lösung vor, deren pH-Wert im stationären Zustand konstant ist. Bei gegebenem Umsatz ist der pH-Wert der Reaktionslösung nur vom pH-Wert des Substrates abhängig. Dieser kann so eingestellt werden, daß im Reaktor der für Bakterien optimale Wert vorliegt. Die Abzisse in Abb. 5 entspricht dem Umsatz bei verschiedenen stationären Zuständen. Bei einem Start-pH-Wert von 4.0 und einem Umsatz von 90 % ergibt sich ein pH-Wert von 6.32 in der Produktlösung (siehe Beispiel in Abb. 5).
- Im Rohrreaktor stellt sich über die Länge des Rohres ein pH-Profil ein, das im stationären Zustand zeitlich konstant ist. Die Abzisse in Abb. 5 korreliert mit der Rohrlänge. Beim Einsatz des Rohres als zweite Reaktionsstufe muß der Umsatz in dieser Stufe so gering sein, daß der pH-Wert im zulässigen Bereich bleibt.
- Im Rückvermischungsreaktor mit endlichem Rücklaufverhältnis stellt sich ebenfalls ein pH-Profil ein. Der pH-Wert am Eingang des Rohres ist jedoch vom Rücklaufverhältnis abhängig. Durch Wahl eines geeigneten Rücklaufverhältnisses ist es möglich, die pH-Werte innerhalb des Toleranzbereiches der Bakterien einzustellen.

Das Resultat dieser Betrachtungen ist, daß der kontinuierliche Rührkessel (Rücklaufverhältnis unendlich) bezüglich der Reaktionsbedingungen der optimale Reaktor ist. Ein Rückvermischungsreaktor ist bedingt einsetzbar. Der Rohrreaktor und der Satzreaktor sind nur einsetzbar, wenn Maßnahmen gegen zu starke pH-Schwankungen erfolgen. Die Regulierung des pH-Wertes kann prinzipiell auf zwei Wegen erfolgen:

* Zusatz von Puffersubstanzen.

Diese Möglichkeit ist für technische Anwendungen kaum zweckmäßig. Die Puffersubstanzen erzeugen zusätzliche Kosten, die insbesondere bei Abwasserbehandlungen kaum tragbar sind. Außerdem können durch diese Zusätze neue Abwasserprobleme geschaffen werden, wie es z.B. bei Einsatz eines Phosphatpuffers der Fall ist. So sind für den totalen Abbau von 100 mmol/l Essigsäure ca. 200 mmol/l Phosphat erforderlich, um den pH-Anstieg bei einem Startwert von 6.4 auf 0.4 pH-Einheiten zu beschränken (57).

* Verfahrenstechnische Maßnahmen.

Durch Modifikation der Substratzugabe kann das pH-Profil beim Satz- und beim Rohrreaktor verändert werden. Beim Satzreaktor ist eine zeitlich gestaffelte Zugabe des Substrates erforderlich ("fed batch"). Diese Zugabe kann auch mit Hilfe einer pH-Regelung erfolgen und damit genau dem Umsatz angepaßt werden. Beim Rohrreaktor kann die Zugabe

an mehreren Stellen längs des Rohres erfolgen (Kreuzstromreaktor), so daß keine kritischen Acetatkonzentrationen bzw. pH-Werte erreicht werden. In der Praxis sind jedoch stets wirtschaftliche Aspekte bei derartigem Mehraufwand zu berücksichtigen.

Aus sämtlichen Überlegungen ergibt sich als Fazit, daß für den bakteriellen Acetatabbau der Rührkessel der optimale Reaktor ist.

Kapitel IV

APPARATIVER AUFBAU

Zur Durchführung der Experimente wurden verschiedene Reaktionsgefäße benutzt, deren Reaktionsvolumen 0.6 l bis 130 l betrug. Entsprechend der Zielsetzung dieser Arbeit, bekannte Arbeitsmethoden vom Labormaßstab in einen Technikumsmaßstab zu übertragen, sollen die verwendeten Reaktoren im folgenden, geordnet nach Reaktortyp und steigender Größe, beschrieben werden.

4.1 BATCH-REAKTOREN

Das Vorhaben, Experimente in einen größeren Maßstab zu übertragen, erfordert zunächst die Beherrschung der für dieses Vorhaben relevanten bekannten Arbeitsmethoden. Daher wurden die ersten Versuche diskontinuierlich in geschlossenen 2-l-Glaskolben durchgeführt, wie sie bereits von Scherer (58) verwendet wurden.

Die Kolben bestehen aus einem Zylinder mit ca. 140 mm Durchmesser und 120 mm Länge, der an beiden Enden halbkugelförmig geschlossen ist. Das Gesamtvolumen beträgt 2200 ... 2500 ml. Im oberen Teil befinden sich zwei Öffnungen, die mit konischen Gummistopfen von 13 mm auf 16 mm Durchmesser bei 21 mm Höhe verschlossen werden. Die Gummistopfen werden mit Preßkappen aus Aluminium gesichert.

Für den Ansatz einer Batch-Kultur sind die folgenden Arbeitsschritte erforderlich:

- Spülen des Kolbens mit Argon zur Verdrängung der Luft.
- Befüllen mit 600 bis max. 1200 ml Nährmedium unter Argon-gegenstrom. Das Nährmedium wird am zweckmäßigsten durch einen kleinen Argonüberdruck aus einer Vorratsflasche in den Kolben befördert.
- Die Öffnungen werden unter Ausschluß von Lufteintritt fest verschlossen.
- Sterilisation des Kolbens mit Nährmedium im Autoklaven (20 min bei 120°C).
- Nach dem Abkühlen auf 37°C werden die Kolben mit 10 % Inokulum angeimpft. Dazu dient eine sterile Einwegspritze, deren Nadel nach dem Abflammen durch einen der Gummistopfen eingestochen wird.
- Das dem Inokulum entsprechende Gasvolumen wird mit Hilfe der Spritze aus dem Kolben entfernt.

- Die Biogasbildung wird kontrolliert, indem man zweimal täglich den Überdruck im Kolben mit Hilfe eines kleinen Manometers (0 ... 2 bar), das mit einer Edelstahlkanüle versehen ist, mißt.

Außerdem besteht die Möglichkeit, den Wachstumsvorgang zu verlängern, indem man der Kultur in bestimmten Zeitabständen entweder frisches Nährmedium hinzufügt (Fed-Batch-Versuche) oder einen Teil des Kulturmediums durch frisches Nährmedium ersetzt (quasikontinuierliche Versuche).

Die quasikontinuierlichen Batch-Versuche erfolgten in den oben beschriebenen Glaskolben. Dazu wurden nach dem Anwachsen der Kultur täglich 10 % des Kulturmediums durch frisches Nährmedium ersetzt. Diese Versuche dienten der angenäherten Ermittlung des pH-Optimums vor dem Beginn der kontinuierlichen Versuche (siehe Kapitel 6.2.2).

Weitere Batch-Kulturen wurden in Einhals-Rundkolben mit 6 l Volumen angezogen, um genügend Inokulum für die Animpfung der kontinuierlichen Kulturen in 12-l-Fermentern zur Verfügung zu haben. Diese Rundkolben wurden mit doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen. Durch eine Bohrung führte ein Steigrohr in die Flüssigkeit, durch die zweite Bohrung ein Rohr in den Gasraum. Beide Rohre waren mit Schläuchen versehen, die durch Quetschhähne zu verschliessen waren. Der Ansatz dieser Kulturen unterschied sich in folgenden Punkten von dem oben beschriebenen Vorgang:

- Die Kolben wurden leer autoklaviert, mit sterilfiltriertem Argon gespült und anschließend mit 5 ... 5.5 l sterilfiltriertem Nährmedium gefüllt. Auf die Wärmesterilisation des Nährmediums im Kolben wurde verzichtet, da der hohe Füllstand beim Autoklavieren des geschlossenen Kolbens zu gefährlichen Druckverhältnissen führen kann.
- Sobald eine deutliche Gasbildung eingesetzt hatte, wurde eine kleine Öffnung freigegeben, so daß das gebildete Biogas über einen Sterilfilter entweichen konnte. Dies geschah, um einen zu großen Überdruck im Kolben zu vermeiden.

4.2 FERMENTER MIT 12 L TOTALVOLUMEN

Die Übertragung der Batch-Versuche in kontinuierliche Fermentationen erfolgte in Glasgefäßen mit einem Totalvolumen von 12 l. Entsprechende Gefäße mit geringerem Volumen wurden bereits von Aivasidis (59) für ähnliche Versuche benutzt. Die Gefäße wurden von der Glasbläserei der KFA aus handelsüblichen Glasmaterialien angefertigt. Abb. 6 zeigt eine schematische Darstellung mit den vorhandenen Anschlüssen und den Maßen. Außerdem sind der Abbildung die vorhandenen Stutzen für Meßsonden sowie für Zu- und Abläufe zu entnehmen, die ausnahmslos mit Glasgewinden der Firma Schott ausgestattet sind.

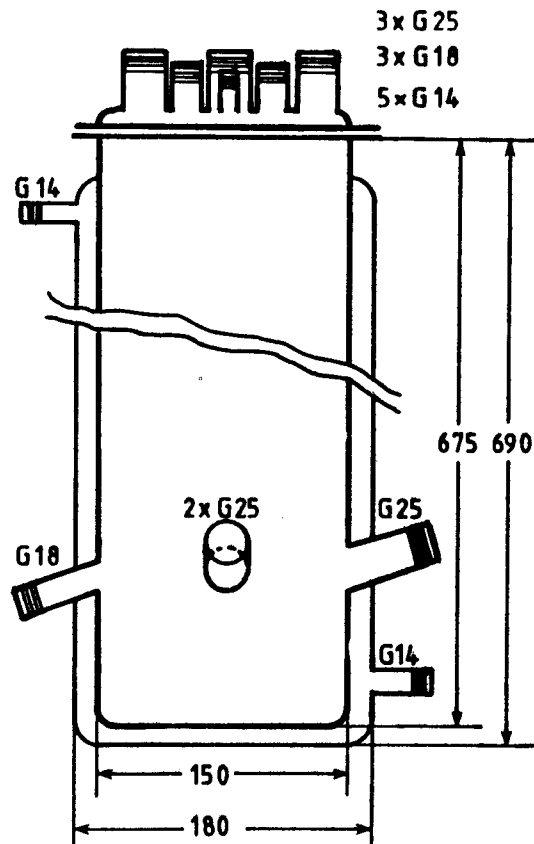


Abb. 6: Gefäß für 12-l-Fermenter

Für die Abdichtung des Deckels sind dieser und das Gefäß mit Planschliffen versehen, zwischen die eine Vitondichtung mit Teflummantelung gelegt wird. Um auch bei kleinen Überdrücken (max. 0.5 bar) Undichtigkeiten zu vermeiden, werden der Deckel und das Gefäß durch 2 Kunststoffringe, die mit 6 Schrauben verbunden sind, zusammengehalten.

Die Thermostatisierung erfolgt mit Hilfe eines Durchlaufthermostaten, der das Kreislaufwasser durch den Doppelmantel des Gefäßes pumpt. Als Regelgröße diente zunächst die Temperatur im Fermenter, die mit einem Widerstandsmeßfühler Pt100 im Kulturmedium gemessen wurde. Dies erwies sich jedoch als unzureichend, da der Temperaturregler aufgrund der großen Totzeit nicht an die Regelstrecke angepaßt werden konnte. Eine hinreichend konstante Temperatur (die Schwankungen machten sich hauptsächlich bei der Messung des Gasdurchflusses negativ bemerkbar) war nur zu erreichen, indem die Temperatur des Kreislaufwassers im Inneren des Thermostaten als Regelgröße genommen wurde. Die Einstellung der Temperatur im Fermenter erfolgte durch die Handsteuerung der Temperatur im Thermostaten.

Die Rührung erfolgte mit Hilfe eines Magnetrührers von unten. Aufgrund des ungünstigen Verhältnisses von Höhe zu Durchmesser ($=4.5$) war zu befürchten, daß sich im Fermenter ein Konzentrationsprofil über die Höhe aufbauen würde. In den Versuchen konnten jedoch keine Inhomogenitäten festgestellt werden, so daß man mit ausreichender Genauigkeit vom

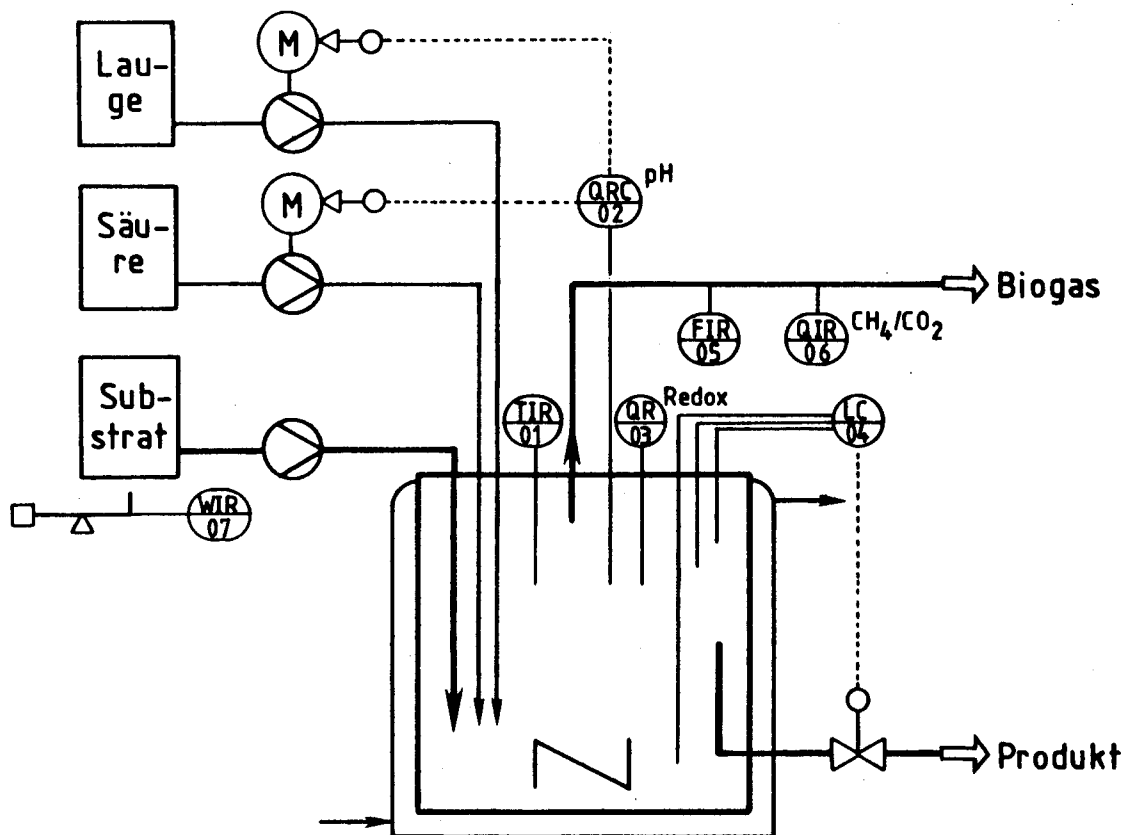


Abb. 7: Verfahrensfließbild für 12-l-Fermenter

Fließverhalten eines Rührkessels ausgehen kann. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die in der Flüssigkeit aufsteigenden Gasblasen eine zusätzliche Vermischung bewirken.

Um Kurzschlußströme zu vermeiden, werden die einfließenden Medien durch Glasrohre eingeleitet, die erst kurz über dem Boden enden. Das Auslaufrohr ist so angeordnet, daß sich die Öffnung im oberen Drittel des Fermenters befindet. Außerdem ist die Auslauföffnung nach oben gerichtet, damit mit dem Produktstrom möglichst wenig Gas ausgetragen wird. Abb. 7 zeigt ein Fließbild der Anlage. Zur Erläuterung seien die vorhandenen Meßstellen und Regelkreise im folgenden beschrieben. Die Bezeichnungen erfolgen nach DIN 19227 (60).

TIR-01 Die Temperaturanzeige erfolgt wahlweise mit einem Quecksilberthermometer oder elektrisch mit Hilfe eines Widerstandsmeßfühlers Pt100. Das Signal des Meßfühlers kann mit Hilfe eines Schreibers aufgezeichnet werden.

QRC-02 Die pH-Messung erfolgt mit einer Einstabmeßkette der Firma Ingold, die von oben in die Lösung ragt. Die Regelung des pH-Wertes erfolgt durch eine Anlage der Firma Metrohm, die aus Meßverstärker, Impulsregler und Punktdrucker besteht. Bei Bedarf wird mit Hilfe von Schlauchpumpen (Ismatec Mini-S 840) entweder Säure oder Lauge in die Lösung gefördert.

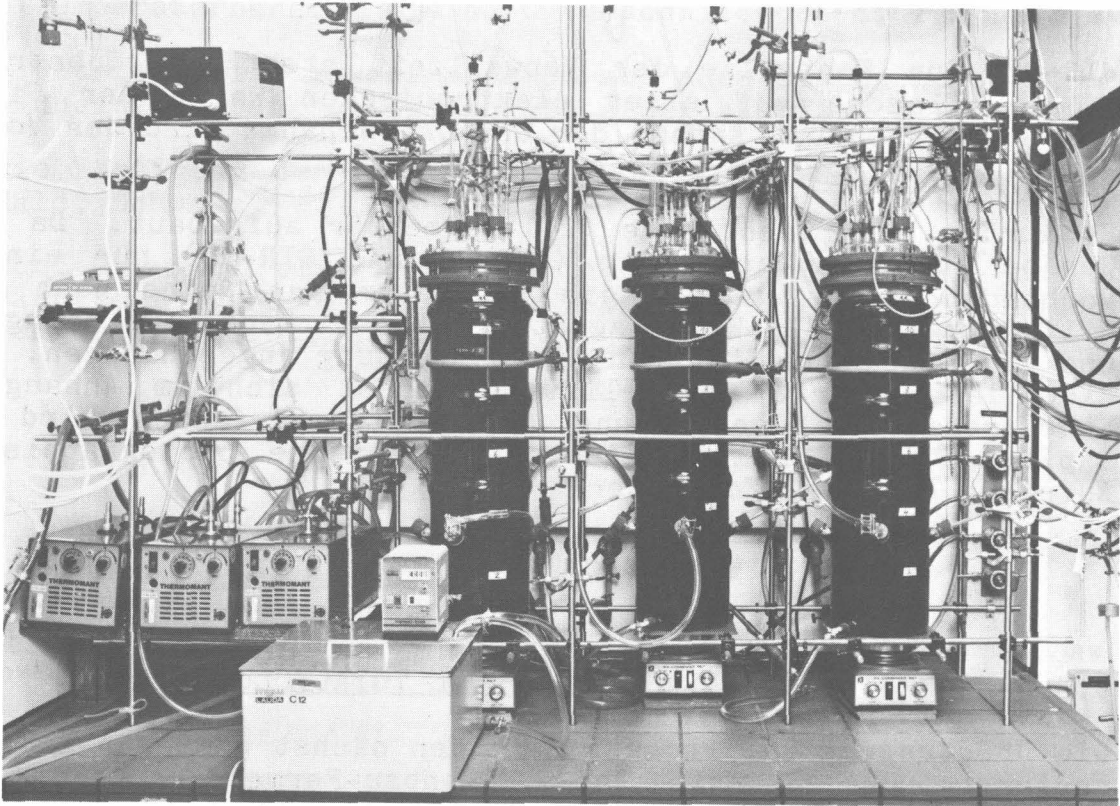


Abb. 8: Photographie der drei 12-l-Fermenter

- QR-03 Die Messung des Redoxpotentials erfolgt analog zur pH-Messung, wobei die pH-Elektrode durch eine Einstabmeßkette mit Platinelektrode ersetzt ist.
- LC-04 Für die Regelung des Flüssigkeitsstandes befinden sich drei Elektroden im Fermenter (Masse, Minimum, Maximum). Sobald das Niveau die Maximelektrode erreicht, wird ein Magnetventil in der Produktleitung so lange geöffnet, bis die Minimelektrode nicht mehr in die Lösung ragt. Die Höhendifferenz zwischen Minimum und Maximum beträgt max. 2 mm, so daß das Volumen um ca. 35 ml schwankt. Eine Minimum-Maximum-Regelung wurde gewählt, um ein zu häufiges Schalten des Magnetventils zu vermeiden. Diese Art der Niveauregelung hat den Nachteil, daß sie bei Schaumbildung nicht mehr funktioniert. Die Schaumbildung war bei den durchgeführten Fermentationen jedoch vernachlässigbar.
- FIR-05 Die Menge des gebildeten Biogases wird mit einem Massendurchflußmesser der Firma Brooks gemessen.
- QIR-06 Aufklärung über die Zusammensetzung des Biogases erhält man anhand der Methan- und der Kohlendioxid-Konzentration. Zur Messung dient ein Infrarotanalysator vom Typ Binos der Firma Leybold-Heraeus. Die restlichen Bestandteile des Gases (im wesentlichen

Schwefelwasserstoff und Wasser) wurden nicht analysiert.

WIR-07 Zur Kontrolle der Verweilzeit steht die Substratflasche auf einer elektronischen Waage der Firma Sartorius. Anhand der Gewichtsabnahme wird der Volumenstrom des Substrates berechnet.

Es wurden drei identische 12-l-Fermenter aufgebaut. Da die Geräte für die Gasmessung (FIR-05 und QIR-06) nur einmal vorhanden waren, wurden die Fermenter der Reihe nach mit Hilfe von vier 3/2-Wege-Magnetventilen (1 Kanal für Eichgas) und einer Zeitschaltuhr an die Meßleitung angeschlossen. Eine detaillierte Geräteliste befindet sich im Anhang C. Eine genauere Beschreibung der Analyseverfahren wird im Kapitel 5 vorgenommen. Abb. 8 zeigt eine photographische Aufnahme der drei Fermenter.

4.3 FERMENTATIONSANLAGE MIT 150 L TOTALVOLUMEN

Die Übertragung des Prozesses in den nächst größeren Maßstab verlangte den Übergang von Eigenbau-Fermentern zu einer industriell gefertigten Anlage. Bei der Beschaffung dieser Anlage waren hauptsächlich die folgenden Gesichtspunkte maßgebend:

- Das Reaktionsvolumen sollte deutlich vergrößert werden, um eine Grundlage für eine technische Anwendung des Prozesses zu schaffen (Scale-up-Faktor mindestens 10).
- Andererseits durfte das Reaktionsvolumen nicht so groß werden, daß die im Institut gegebenen Möglichkeiten bezüglich des Betriebes der Anlage und der Bereitstellung der Lösungen überschritten würden.
- Die Anlage sollte mit einer umfangreichen Meß- und Regelungstechnik ausgestattet werden, um möglichst viele Prozeßparameter erfassen zu können.
- Durch die Kopplung der Anlage an einen Prozeßrechner sollte die Möglichkeit geschaffen werden, Meßwerte in digitaler Form zu verarbeiten und zu speichern, sowie anhand von Berechnungen Prozeßgrößen durch den Computer zu beeinflussen.
- Die gesamte Ausstattung der Anlage sollte eine möglichst große Flexibilität gewährleisten, um den in der Forschung stets zu erwartenden Änderungen der Aufgabenstellung gerecht werden zu können.

Sämtliche Planungen wurden zunächst in einer Angebotsanfrage zusammengefaßt (61) und anschließend in Zusammenarbeit mit den anbietenden Firmen präzisiert. Die in Auftrag gegebene Anlage sei kurz charakterisiert:

- Totalvolumen des Fermenters 150 l;

- Möglichkeit des kontinuierlichen Dauerbetriebes im Temperaturbereich bis 60°C (mesophile und thermophile Kulturen);
- Betriebsweise sowohl anaerob als auch aerob;
- uneingeschränkte Möglichkeit eines sterilen Betriebes.

Die Fertigung der Anlage oblag der Firma Bioengineering AG, Wald, Schweiz.

Abb. 9 zeigt ein Grundfließbild der Anlage, in dem die Hauptverfahrensschritte und die wichtigsten Medienströme dargestellt sind. Abb. 10 zeigt ein Photo der Anlage.

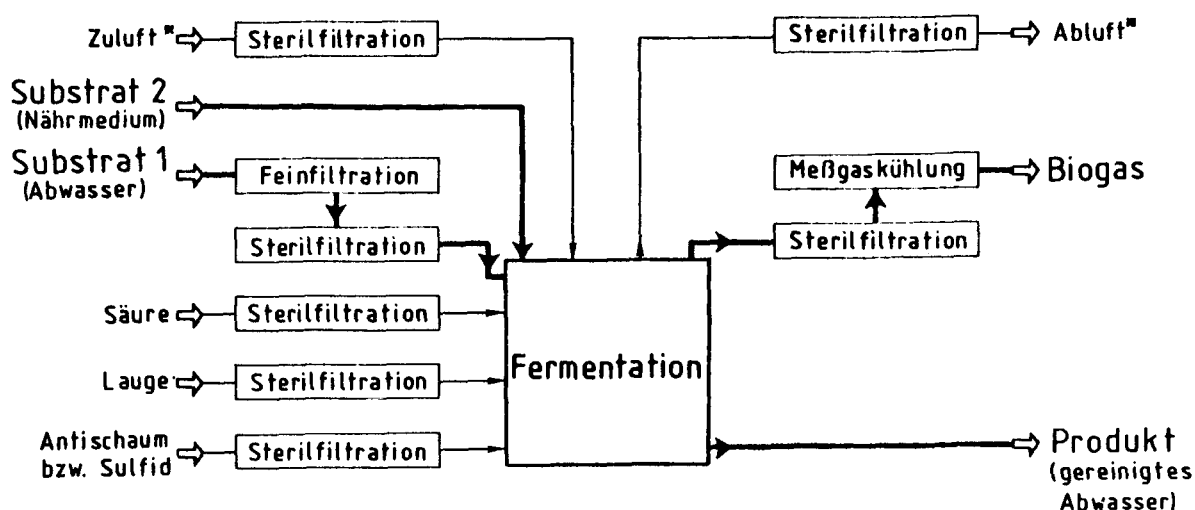


Abb. 9: Grundfließbild des 150-l-Fermenters

Das Substrat wird auf zwei Vorlagen verteilt. Der Strang 'Substrat 1' ist für feststofffreie Medien vorgesehen, wie z.B. das essigsäurehaltige Brüdenkondensat. Für dieses Substrat stehen zwei PE-Tanks mit je 2500 l Volumen zur Verfügung. Die Sterilisation der Lösung erfolgt mit Hilfe von Sterilfiltern, denen eine Feinfiltration vorgeschaltet ist. Außerdem besteht die Möglichkeit, die gelöste Luft aus der Flüssigkeit zu entfernen, indem man Argon von unten durch den Tank leitet.

Eine zweite Substratleitung ist für die Zugabe von zusätzlichen Nährstoffen gedacht, wobei es auch möglich ist, Suspensionen mit geringem Feststoffanteil zu fördern. Hierfür stehen zwei Edelstahl-Druckbehälter mit einem Volumen von je 20 l zur Verfügung. Die Nährstoffe werden mit 10 ... 20-facher Konzentration vorgelegt und mit entsprechend geringerem Volumenstrom gefördert. Die Sterilisation dieser Vorlagen erfolgt im Autoklaven.

Für die Regelung des pH-Wertes steht je ein Strang mit Säure und Lauge zur Verfügung. Außerdem kann durch eine weitere Zuleitung entweder Antischaummittel (bei aeroben Fermentationen) oder Sulfidlösung (bei anaeroben Fermentationen) zugegeben werden. Diese drei Stränge sind identisch ausgestattet mit 20-l-Edelstahl-Druckbehältern und Filtereinheiten für die Sterilisation.

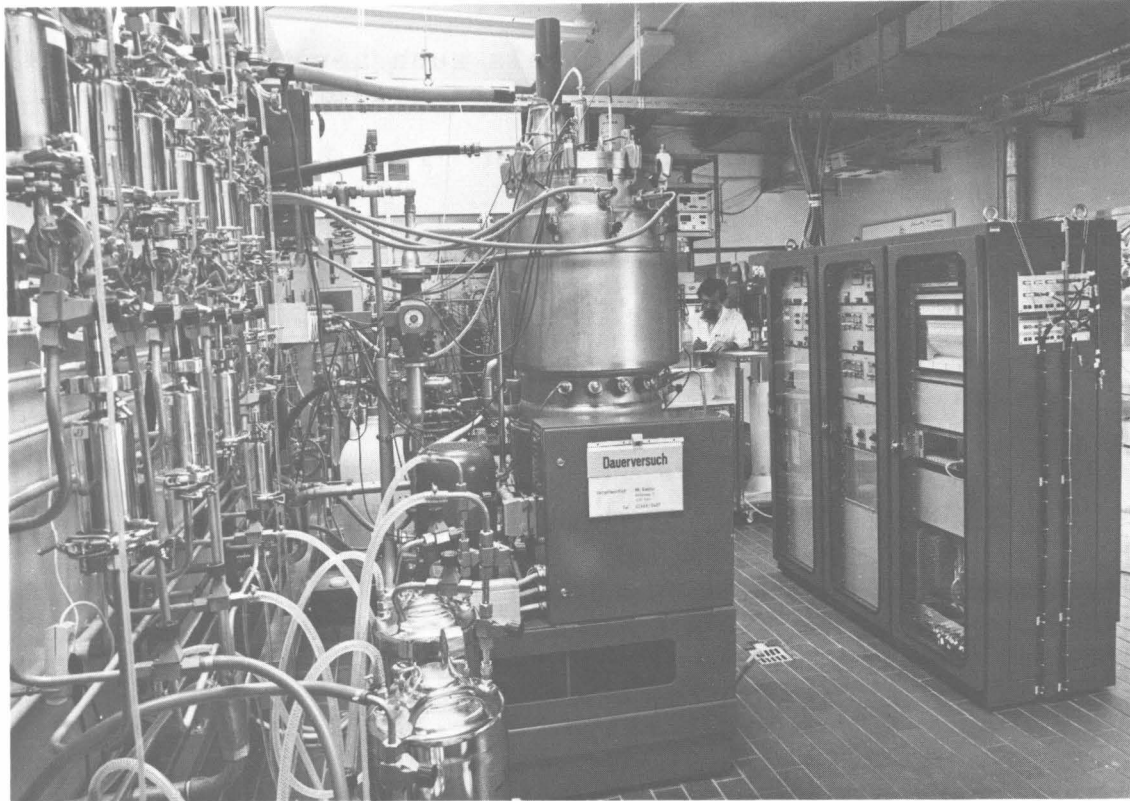


Abb. 10: Photographie der Anlage

Die Entnahme von flüssigem Produkt erfolgt durch ein Bodenablassventil. Außerdem steht eine Entnahmestelle für Analysenproben zur Verfügung.

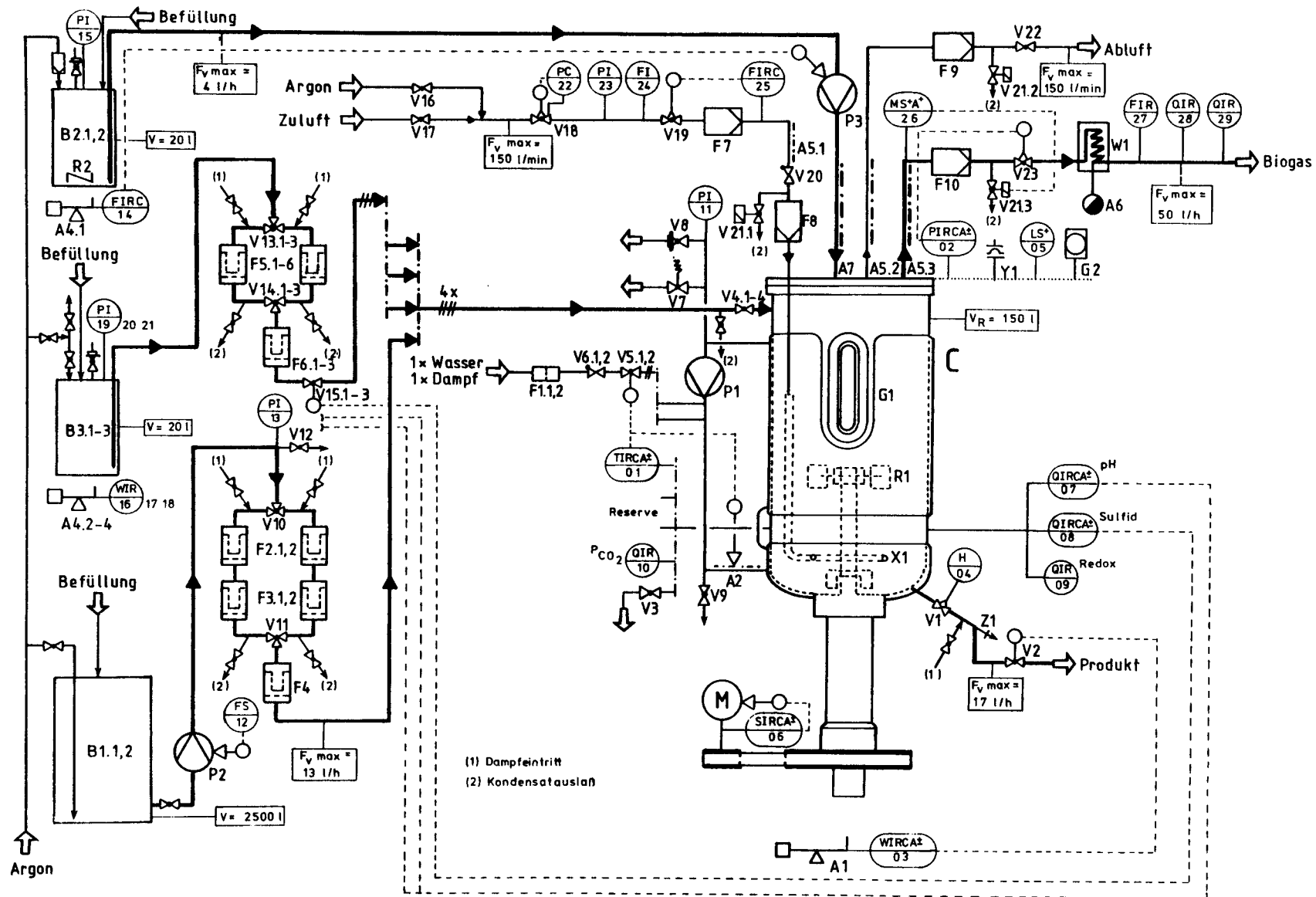
Für die Be- und Entgasung sind 3 weitere Leitungsstränge vorhanden, die mit Sterilfilterkerzen ausgestattet sind. Die Zuluft- und die Abluftleitung dienen der Belüftung des Kulturmediums bei aeroben Fermentationen. Beim Start einer anaeroben Fermentation wird die Zuluftleitung benutzt, um die Luft mit Hilfe von Argon aus dem vorgelegten Medium und dem Fermenterraum zu entfernen. Das bei anaeroben Fermentationen entstehende Biogas wird durch eine weitere Leitung entnommen, die zusätzlich mit einem Meßgaskühler ausgestattet ist.

Eine detailliertere Darstellung der gesamten Anlage erfolgt anhand einer Abbildung und zweier Tabellen:

- Abb. 11 zeigt ein Verfahrensfließbild der gesamten Anlage mit Grund- und Zusatzinformationen. Die zeichnerische Ausführung erfolgt nach DIN 28004 (62); die Darstellung der MSR-Technik erfolgt nach DIN 19227. (60)
- Tab. 2 enthält die dazugehörige Meßstellenliste.
- Tab. 3 enthält die dazugehörige Geräteliste.

Im Verfahrensfließbild wurde auf die Darstellung der Einrichtungen für Messen, Steuern und Regeln besonderer Wert gelegt. Mit Ausnahme des Fermenters und des Rührwerkantriebes erfolgte die Zeichnung nicht maßstäblich. Aus der

Abb. 11: Verfahrensfließbild des 150-l-Fermenters



zeichnerischen Anordnung der Geräte und Armaturen kann kein Rückschluß auf die räumliche Anordnung gezogen werden. Die Zuleitungen für Dampf und die Ableitungen für Kondensat wurden aus Platzgründen nicht zusammengefaßt, sondern nur mit den Bezeichnungen (1) bzw. (2) versehen.

TABELLE 2

Meßstellenliste für 150-1-Fermenter

Bedeutung der Folgebuchstaben:

- I = Anzeige
- R = Registrierung
- C = Regelung
- S = Schaltung, nicht fortlaufende Steuerung
- A = Alarm
- + = Schaltung oder Alarm bei größeren Werten
- = Schaltung oder Alarm bei kleineren Werten

1. Kessel mit Deckel und Rührwerk

- TIRCA⁺₋01 Temperatur im Kulturmedium; Meßprinzip: Pt100; Regelung: Dreipunktregler; Stellglieder: Ventil V5.1 und Ventil V5.2 oder Heizung A2. Es wird entweder Kühlwasser oder Dampf in den Thermostatisierungskreislauf dosiert. Alternativ kann die Heizung durch eine elektrische Heizpatrone, die in den Kreislauf eingebaut ist, erfolgen.
- PIRCA⁺₋02 Überdruck im Fermenter; Meßprinzip: piezoresistiver Druckaufnehmer; Regelung: kontinuierlich; Stellglied: Regelventil V23.
- WIRCA⁺₋03 Füllstand mit Hilfe der Fermenterwaage; Meßprinzip: Dehnmeßstreifen (Tara mechanisch kompensiert); Regelung: Zweipunkt; Stellglied: Absperrventil V2. Das Ventil wird bei der Überschreitung des Sollwertes geöffnet. Die Öffnungszeit läßt sich zusätzlich mit Hilfe einer Zeitschaltuhr in Intervalle unterteilen.
- H-04 Öffnung des Bodenablaßventils durch Handeinstellung der Steuerluft; stetiges Stellverhalten.
- LS⁺-05 Niveausonde; Meßprinzip: konduktiv. Es können alternativ zwei verschiedene Schaltfunktionen ausgeführt werden: Bei Fermentationen ohne Schaumbildung kann durch die Ansteuerung des Ventils V2 der Füllstand geregelt werden. Bei Schaumbildung kann durch die Ansteuerung des Ventils V15.3 Antischaummittel zudosiert werden.
- SIRCA⁺₋06 Drehzahl des Rührers; Meßprinzip: Generator auf Tachowelle; Regelung: kontinuierlich; Stellglied: Gleichstrommotor.

QIRCA⁺₋07 pH-Wert; Meßprinzip: Glaselektrode; Regelung: Dreipunktregler; Stellglieder: Ventile V15.1 und V15.2 zur Dosierung von Säure oder Lauge.

QIRCA⁺₋08 Sulfidkonzentration; Meßprinzip: Silber/Silber-sulfid-Elektrode, kombiniert mit Glaselektrode; Regelung: Zweipunkt; Stellglied: V15.3 zur Zugabe von Sulfidlösung. Die Sulfidzugabe kann nur alternativ zur Zugabe von Antischaummittel erfolgen. Bei aeroben Fermentationen kann diese Elektrode durch eine Sauerstoff-Elektrode ersetzt werden.

QIR-09 Redoxpotential; Meßprinzip: Platinelektrode.

QIR-10 Partialdruck von Kohlendioxid in der Lösung; Meßprinzip: Messung des pH-Wertes in einer Bicarbonat-Lösung, die mit dem Medium durch eine semipermeable Membran im Gleichgewicht steht (Funktionsprinzip der Severinghaus-Elektrode, siehe auch Kapitel 7.1).

2. Thermostatisierkreislauf

PI-11 Druck im Thermostatisierkreislauf; Meßprinzip: Manometer.

TA⁺₋30 Alarm bei Überhitzung im Kreislauf (nicht gezeichnet).

3. Substratgruppe 1

FS-12 Förderleistung der Dosierpumpe P2 (elektrische Fernsteuerung vom Schaltschrank aus).

PI-13 Druck in der Substratleitung; Meßprinzip: Manometer.

4. Substratgruppe 2

FIRC-14 Förderleistung der Schlauchpumpe P3; Meßprinzip: Waage für Substratvorlage; Regelung: kontinuierlich; Stellglied: Antriebsmotor für Schlauchpumpe. Die Gewichtsabnahme des Gefäßes wird mit Hilfe eines Computers differenziert. Das Resultat dient als Regelgröße für die Pumpeneinstellung (DDC-Regelung, siehe Kapitel 6.4.2.3). Die Datenaufnahme von der Waage erfolgt digital, da nur so eine Auflösung von 1 g bei einem Maximalwert von 60 kg möglich ist.

PI-15 Überdruck in der Substratvorlage; Meßprinzip: Manometer.

TS-31 Temperatursteuerung für Thermofalle A4; Steuergröße: Versorgungsspannung für Heizwicklung. (nicht gezeichnet)

5. Drei Dosierstrecken für Säure, Lauge, Antischaummittel bzw. Sulfidlösung.

WIR-16

... 18 Verbrauch von Säure, Lauge und Antischaummittel;
Meßprinzip: Waagen für Vorlagen. Die Datenaufnahme erfolgt identisch zu FIRC-14.

PI-19

... 21 Überdruck in den Vorlagegefäßen;
Meßprinzip: Manometer.

6. Zuluftleitung

PC-22 Druck in Zuluftleitung; Prinzip: Druckregelventil.

PI-23 Druck in Zuluftleitung; Meßprinzip: Manometer.

FI-24 Volumenstrom Zuluft;
Meßprinzip: Schwebekörper-Durchflußmesser.

FIRC-25 Volumenstrom Zuluft; Meßprinzip: thermischer Massendurchflußmesser; Regelung: kontinuierlich;
Stellglied: Regelventil V19.

TS-32

... 34 Temperatursteuerungen für beheizte Schläuche A5.1 ... 3; Steuergrößen: Versorgungsspannungen für Heizwicklungen. (nicht gezeichnet)

7. Abluftleitung aerob

Keine MSR-Stellen.

8. Abgas anaerob

MS⁺A⁺-26 Flüssigkeit in Abluftleitung; Meßprinzip: konduktiv. Bei Eindringen von Flüssigkeit oder Schaum in die Abgasleitung wird das Ventil V21.3 geöffnet und das Regelventil V23 geschlossen. Diese Sicherheitsfunktion dient dem Schutz der nachfolgenden Meßgeräte.

FIR-27 Volumenstrom des Abgases (Biogases);
Meßprinzip: thermischer Massendurchflußmesser.

QIR-28 Methankonzentration im Abgas;
Meßprinzip: Infrarotanalysator ("Binos").

QIR-29 Kohlendioxidkonzentration im Abgas;
Meßprinzip: Infrarotanalysator ("Binos").

TABELLE 3

Geräteliste für 150-l-Fermenter

1. Kessel mit Deckel und Rührwerk

- C Fermenter mit 150 l Totalvolumen; bestehend aus einem Kessel mit Klöpperboden und einem Flachdeckel, beide mit diversen Stützen. Der Kessel hat einen Doppelmantel zur Thermostatisierung des Inhaltes.
- R1 Rührwerk; bestehend aus Blattrührer, Bodenrührblatt, doppelter Gleitringdichtung, Lagerung, Kraftübertragung durch Flachriemen und Gleichstrommotor.
- A1 Waage für Fermenter, max. 150 kg Netto. Die Tara, bestehend aus Fermenter und sämtlichen Einbauten, wird mechanisch kompensiert (Prinzip der Dezimalwaage). Der Inhalt des Fermenters wird mit einer elektronischen Waage gemessen.
- A2 Elektrische Heizpatrone im Thermostatisierkreislauf.
- G1 Seitliches Längsschauglas.
- G2 Rundes Schauglas mit Beleuchtung im Deckel.
- X1 Ringbrause für Belüftung.
- Y1 Berstscheibe.
- V1 Bodenablassventil, stetiges Stellverhalten, Handbedienung.
- V2 Absperrventil, Stellglied für Produktentnahme bei kontinuierlicher Betriebsweise.
- V3 Probenahmeventil, Handbedienung.
- V4.1
... 4 4 Absperrventile für Medienzugabe, Handbedienung.

2. Thermostatisierkreislauf

- P1 Kreislumpumpe.
- F1.1,2 Schmutzfänger für Kühlwasser und Dampf.
- V5.1,2 2 Absperrventile für Kühlwasser- und Dampfeinlaß, Stellglieder für Temperaturregelung.
- V6.1,2 2 Rückschlagventile.
- V7 Auslaßventil, vorgespannt durch eine Feder.

- V8 Sicherheitsventil.
- V9 Absperrventil für Systementleerung.

3. Substratgruppe 1

- B1.1,2 2 PE-Tanks mit je 2500 l Volumen.
- P2 Kolben-Membran-Dosierpumpe, max. 13 l/h, Förderkonstanz > 99 %.
- F2.1,2 2 Feinfilter mit 3 µm Porenweite.
- F3.1,2 2 Sterilfilter mit 0.2 µm Porenweite.
- F4 1 Sterilfilter mit 0.2 µm Porenweite.
- V10,V11 2 Dreiwegehähne (Kugelventile mit L-Durchgang) für Wechsel zwischen den parallelen Filtersträngen.
- V12 Entlüftungsventil.

Die parallele Anordnung der Filter F2.1/F3.1 und F2.2/F3.2 ermöglicht einen Wechsel der Filter während des Betriebes durch Umlegen der beiden Dreiwegeventile V10 und V11. In dem abgesperrten Strang können jeweils die Filterkerzen gewechselt und anschließend mit Dampf sterilisiert werden. Der Filter F4 dient als Sicherheitsfilter gegen Infektionen und kann während des Betriebes nicht gewechselt werden.

4. Substratgruppe 2

- B2.1,2 2 Edelstahl-Druckbehälter mit 20 l Gesamtvolumen; die Gefäße werden wechselweise mit Hilfe von Anstechnadeln an den Fermenter angeschlossen. Sie sind mit Sterilfilterkerzen für die Begasung mit Argon, Sicherheitsventilen und Manometern ausgerüstet.
- R2 Die Rührung erfolgt mit Hilfe eines Magnetrührers.
- A4.1 Elektronische Waage, max. 60 kg, Auflösung 1 g.
- P3 Schlauchpumpe, maximal ca. 4 l/h; der Volumenstrom wird geregelt.
- A7 Thermofalle zur Verhinderung des Rückwachsens von Organismen in die Substratleitung.

5. Drei Dosierstrecken für Säure, Lauge, Antischaummittel bzw. Sulfidlösung.

Diese Dosierstrecken sind völlig identisch und sind daher nur einmal dargestellt. Die Förderung der Medien erfolgt mit Hilfe einer Drucküberlagerung in den Vorratsgefäßen.

- B3.1
 ... 3 3 Edelstahl-Druckbehälter mit 20 l Gesamtvolumen. Die Behälter sind mit Sicherheitsventilen, Manometern und einer Dreierbatterie von Membranventilen für die Drucküberlagerung und für die Entgasung ausgestattet.
- A4.2
 ... 4 3 Elektronische Waagen, entsprechend A4.1
- F5.1
 ... 6 6 Sterilfilter mit 0.2 µm Porenweite.
- F6.1
 ... 3 3 Sterilfilter mit 0.2 µm Porenweite.
- V13.1
 ... 3 3 Dreiwegehähne (Kugelventile mit L-Durchgang) für Wechsel zwischen den parallelen Filtersträngen.
- V14.1
 ... 3 dto.
- Die Handhabung der Filtereinheiten erfolgt identisch zu Substratgruppe 1.
- V15.1
 ... 3 3 Absperrventile, Stellglieder für Dosierung der Medien.

6. Zuluftleitung

- V16, V17 Absperrventile für Druckluft bzw. Argon.
- V18 Druckregelventil mit Manometer.
- V19 Regelventil, pneumatisch; Stellglied für Durchflußregelung.
- V20 Rückschlagventil.
- V21.1
 ... 3 3 Absperrventile für Kondensatauslaß bei der Sterilisation.
- F7 Feinfilter, Porenweite 60 µm.
- F8 Sterilfilter (Keramikkerze); dieser Filter ist in eine Öffnung des Deckels eingebaut und wird mit dem Fermenterinhalt sterilisiert.
- A5.1
 ... 3 3 elektrisch beheizte Verbindungsschläuche.

7. Abluftleitung aerob

- F9 Sterilfilter (Keramikkerze); die Sterilisation erfolgt mit Schleichdampf aus dem Fermenter.
- V22 Absperrventil.

8. Abgas anaerob

- F10 Sterilfilter (Keramikkerze); die Sterilisation erfolgt mit Schleichdampf aus dem Fermenter.
- W1 Meßgaskühler.
- A6 Kondensatabscheider.
- V23 Regelventil, pneumatisch; Stellglied für Druckregelung.

4.4 PROZESSKOPPLUNG MIT EINEM COMPUTER

Bei der Planung des 150-l-Fermenters wurde von vornherein berücksichtigt, daß die Fermentationsanlage mit einer EDV-Anlage gekoppelt werden sollte. Die Aufgaben dieser Anlage lassen sich in zwei Hauptbereiche aufgliedern:

- Elektronische Datenerfassung und -verarbeitung;
- Eingriffe vom Computer in den Prozeß.

Beschränkt man den Einsatz eines Computers auf die Datenerfassung und -verarbeitung, so erhebt sich die Frage, ob die Vorteile gegenüber dem alleinigen Einsatz von Linienschreibern den erheblich größeren Aufwand rechtfertigen. Diese Frage kann jedoch nicht generell beantwortet werden, sondern muß für jeden Prozeß anhand der Zielsetzung und der Randbedingungen erneut entschieden werden. Die wesentlichen Gesichtspunkte sind in Tab. 4 zusammengefaßt.

Berücksichtigt man darüberhinaus die Möglichkeit von Rückgaben durch den Computer an den Prozeß, so müssen die Vor- und Nachteile mit der konventionellen Steuerungs- und Regelungstechnik verglichen werden. Auch hier kann die Entscheidung nicht generalisiert werden. Im zweiten Teil der Tab. 4 sind die wesentlichen Gesichtspunkte zusammengefaßt. Hierbei wurde davon ausgegangen, daß der Computer nicht die herkömmlichen Regler ersetzen, sondern nur zusätzliche Funktionen übernehmen soll. Die Rückgabe von Daten erfolgt hierbei durch Änderung des Sollwertes an einem konventionellen Regler. Man spricht in diesem Falle auch von einer SPC-Regelung ("set point control").

Für den 150-l-Fermenter fiel die Entscheidung eindeutig zugunsten einer rechnergekoppelten MSR-Technik. Ausschlaggebend waren

- die Anzahl der zu erfassenden Meßgrößen;
- der Umfang der geplanten Auswertung, insbesondere bei der Erfassung von Übergangszuständen;
- die Möglichkeit der Verknüpfung von Meßgrößen (z.B. pH-Wert/Redoxpotential/Sulfidkonzentration);
- prozeßabhängige Steuerung der Sollwerte von Regelstrecken.

Im folgenden werden das Konzept und der Aufbau der vorhandenen EDV-Anlage sowie der dazugehörigen Software beschrieben.

TABELLE 4

Auswahlkriterien für die Datenverarbeitung

Kriterium	Computer	konventionelle Technik
Anzahl der Dateneingänge	sehr ausbaufähig	sehr begrenzt
weitere Verarbeitung der Daten	äußerst flexibel	praktisch nur "per Hand"
Verknüpfung von Meßgrößen	beliebig	sehr eingeschränkt
Störanfälligkeit	geräteabhängig	geräteabhängig
Kosten	hoch	relativ gering
apparativer Aufwand	erheblich	relativ niedrig
personeller Aufwand:		
-beim Aufbau	hoch	niedrig
-im Betrieb	relativ gering	je nach Umfang der Auswertung hoch
Auswahl von Regelalgorithmen	beliebig	sehr eingeschränkt
Verknüpfung mehrerer Meßgrößen	sehr einfach	nur bedingt möglich (Analogrechentechnik)
Funktions-sicherheit	gerätebedingt	gerätebedingt
Rückgaben an den Prozeß	sehr gut möglich	unmöglich

4.4.1 Hardware

Die Anzahl der auf dem Markt befindlichen Kleinrechner und Mikroprozessoren ist sehr groß, so daß eine eindeutige Entscheidung für ein bestimmtes Gerät im allgemeinen schwerfällt. Im Zusammenhang mit dem 150-l-Fermenter wurde die Anzahl der Möglichkeiten jedoch durch die gestellten Anforderungen und die vorhandenen Voraussetzungen stark eingeeengt. Zunächst waren die folgenden Forderungen zu erfüllen:

- Die Datenverarbeitungsanlage muß bei kontinuierlichen Fermentationen über längere Zeiträume ohne Unterbrechung arbeiten, so daß eine hohe Betriebssicherheit erforderlich ist.
- Die Daten von vielen verschiedenen Kanälen sind zu erfassen. Da die Signale nicht in allen Fällen vereinheitlicht werden können, wird eine möglichst große Flexibilität bezüglich der Dateneingänge verlangt.
- Die Anzahl der Kanäle und die Dauer der Messungen führt zwangsläufig zu einer großen Datenmenge, die für längere Zeit gespeichert werden muß.
- Der Betrieb der Anlage soll möglichst unabhängig von anderen Experimenten sein, um Störungen von außen zu minimieren.
- Die Geräte und die wesentlichen Teile der Software sollen prinzipiell auch für andere Anlagen oder bei Bedarf für kleinere Experimente benutzt werden können.

Außerdem waren die folgenden Voraussetzungen zu berücksichtigen:

- Im Institut war bereits ein Prozeßrechner der Firma Digital Equipment vorhanden. Diese Anlage sollte ausgebaut werden und war auf jeden Fall in das Konzept mit einzubeziehen.
- In der KFA lagen bereits umfangreiche Erfahrungen mit Mikroprozessor-Systemen vom Typ CAMAC (63) vor, die genutzt werden sollten. Im Rahmen anderer Experimente (64) wurde ein solches System auch bereits im Institut eingesetzt.
- Ein Großrechnersystem der Firma IBM war in der KFA vorhanden und stand für aufwendige Rechenoperationen und als Massespeicher (Magnetbänder) zur Verfügung.
- Bei der Planung der MSR-Einheiten des Fermenters wurde der Rechneranschluß bereits berücksichtigt. Dabei wurden weitestgehend Einheitssignale 4 ... 20 mA verwendet. Zusätzlich waren noch die Signale einiger externer Meßgeräte zu berücksichtigen.

Die Zusammenfassung aller Punkte führte zu einem hierarchisch aufgebauten System, daß aus mehreren Rechnern verschiedener Größe und Leistungsfähigkeit besteht. Abb. 12 zeigt die vorhandene Gerätekonfiguration. Eine Geräteliste befindet sich in Anhang C.

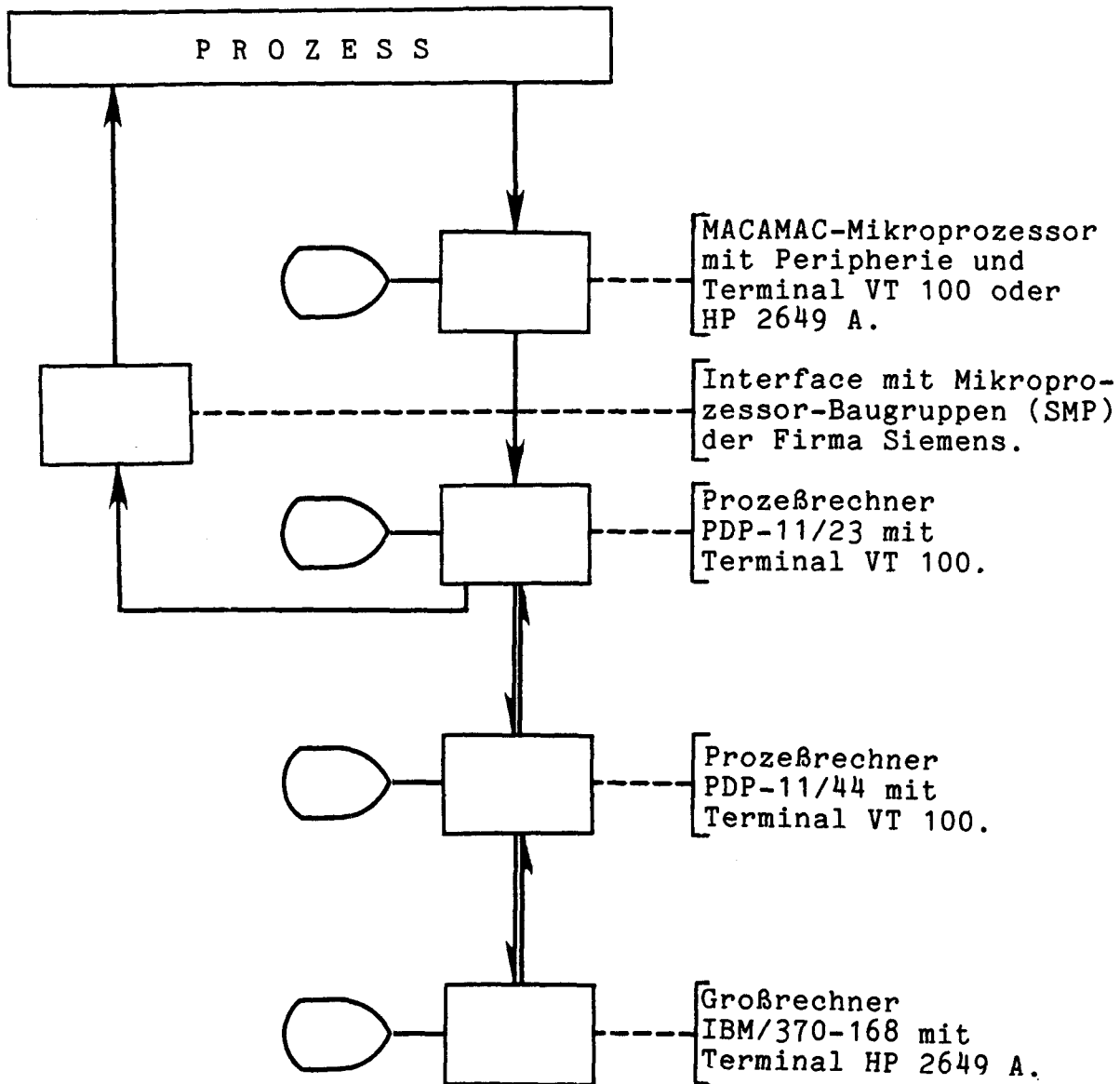


Abb. 12: Gerätekonfiguration

4.4.2 Software

Obwohl in der KFA bereits mehrere Systeme mit den hier eingesetzten Geräten aufgebaut waren, standen für diesen Anwendungsfall geeignete Programme nur in begrenztem Umfang zur Verfügung. Daher mußte ein Großteil der Software noch erstellt werden. Bei der Erstellung der Programme wurde auf die folgenden Gesichtspunkte besonderer Wert gelegt:

- Die für die Hardware geforderte Betriebssicherheit darf durch die Software in keiner Weise eingeschränkt werden. Mögliche Fehlersituationen sollten im Programm erkannt werden, um die Möglichkeit zu bieten, geeignete Gegenmaßnahmen einzuleiten.
- Sämtliche Programme sollten einfach zu bedienen sein und die vom Benutzer geforderten Eingaben und Entscheidungen so weit wie möglich unterstützen.
- Durch die Verwendung der bekannten Programmiersprachen FORTRAN und BASIC sollten spätere Modifikationen oder Ergänzungen vereinfacht werden. Hierzu dient auch die weitgehende Strukturierung der Programme.
- Eine gewisse Komplexität der Software ließ sich nicht vermeiden, so daß eine umfassende Dokumentation erforderlich war. Da deren Umfang den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde, soll hier lediglich eine Übersicht gegeben werden.

Im folgenden wird zunächst anhand eines Blockdiagrammes (Abb. 13) ein Überblick über die Datenverarbeitung gegeben. Anschließend werden die dazugehörigen Programme kurz beschrieben. Ein ausführlicher Datenflußplan und die Programmablaufpläne (Abb. 14 - 18) befinden sich im Anhang E.

4.4.2.1 Programme MWE001 und MWE011

Die Programme MWE001 und MWE011 sind BASIC-Programme für den MACAMAC-Mikroprozessor. Sie dienen zur Aufnahme der Daten in vorgegebenen Zeitabständen, zur Vorverarbeitung der Daten und zur Übertragung der Daten zum Prozeßrechner PDP-11. Beide Programme sind modular aufgebaut und sind weitestgehend identisch. Sie unterscheiden sich lediglich im Verfahren zur Bestimmung des Zeitpunktes für den nächsten Meßzyklus, wobei das Programm MWE001 für längere Meßzyklen vorzuziehen ist, während MWE011 nur für Zeitabstände bis maximal 1 Minute geeignet ist.

Bei der Entwicklung dieser Programme wurde davon ausgegangen, daß auch bei Prozessen, die sich nur langsam ändern, eine relativ hohe Aufnahme rate erforderlich ist. Andernfalls würde bei Meßwerten, die starken Schwankungen unterliegen, leicht ein falsches Bild des Meßwertverlaufes entstehen. Demgegenüber führt die hohe Aufnahme rate bei Meßwerten, die kaum Schwankungen zeigen, zu Datenansammlungen, die bei geringem Informationsgehalt viel Speicherplatz

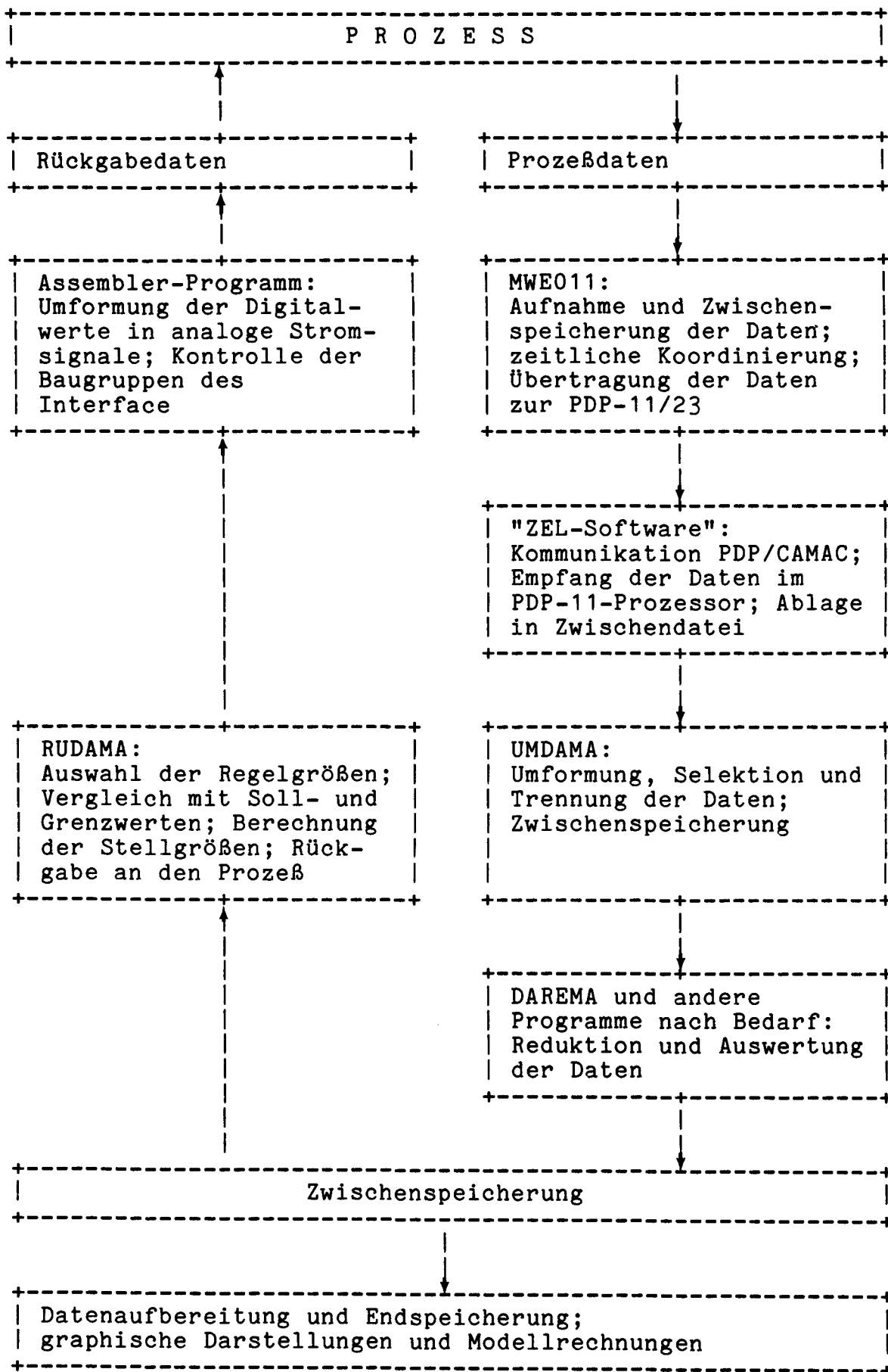


Abb. 13: Blockdiagramm für die Datenverarbeitung

in Anspruch nehmen. Daher wurde bei der Datenerfassung in den Programmen MWE001 und MWE011 bereits eine Datenreduktion vorgesehen, die einen neuen Meßwert nur dann abspeichert, wenn er x % von dem zuletzt gespeicherten Meßwert abweicht, wobei x beim Programmstart vom Benutzer gewählt wird. Diese Maßnahme führt in der Regel zu einer erheblichen Reduzierung der aufgenommenen Werte, so daß der zur Verfügung stehende Speicherplatz wesentlich besser genutzt wird. Dabei sinkt der Informationsgehalt gegenüber der Aufnahme ohne Datenreduktion - gleichen Abstand der Meßzyklen vorausgesetzt - nur unwesentlich. Jedes der beiden Programme besteht aus den folgenden Modulen:

MZSEC	Bestimmung des Meßzeitpunktes und Übertragung der Daten.
DATUM	Einlesen des Datums und der Uhrzeit (Real Time Clock) und Ausgabe auf Bildschirm oder in den zu übertragenden Vektor.
PH-METER	Einlesen und Umrechnen der BCD-Eingänge von max. 2 Metrohm-pH-Metern E 632 (Digital In-/Out-Register).
ANALOG	Einlesen und Umrechnen von max. 16 Analog-Eingängen (Analog Input).
WAAGE	Einlesen und Umrechnen von max. 4 Sartorius-Waagen mit Schnittstelle V24/20mA (Dual Asyncr. Data Interface).

Weitere Einzelheiten sind dem Programmablaufplan (Abb. 15, Anhang E) zu entnehmen. Für die Übertragung der Daten zum Prozeßrechner werden mehrere Programme und Prozeduren benötigt (66), (67), (68). Außerdem steht eine Kommunikations-Software für die Übertragung von Programmen und Daten vom Prozeßrechner zum Mikroprozessor zur Verfügung¹.

4.4.2.2 Programm UMDAMA

Das Programm UMDAMA ist ein Fortran-Programm für den PDP-11-Prozeßrechner. Es dient der Umformung, Selektion und Trennung der Daten, die vom MACAMAC-Mikroprozessor übertragen wurden. In ihm wurden die Programme RPDMA, SEDAMA und TRKAMA zusammengefaßt.

Das Hauptprogramm UMDAMA dient lediglich der Dateiverwaltung und ruft die enthaltenen Programme als Subroutinen auf. Die Teilprogramme haben die folgenden Funktionen:

¹ Diese beiden Softwarepakete wurden freundlicherweise vom Zentrallabor für Elektronik der KFA zur Verfügung gestellt. Die Herren Dipl.-Ing. G. Brandenburg und M. Rudolph bearbeiteten die erstgenannten Programme, die Herren Dipl.-Ing. H. Thyssen und G. Breuer die letztgenannten Übertragungsprogramme.

RPDPMA	Umformung der bei der Datenübertragung abgelegten Werte in das Real-Format der PDP-Rechner.
SEDAMA	Selektion der Daten aus der Gesamtmenge der abgelegten Werte.
TRKAMA	Trennung der Datenkanäle und Zuordnung der zu den Meßwerten gehörenden Zeiten. Außerdem werden die gemessenen Werte (Einheit mV oder dimensionslos) anhand von Eichgeraden in Werte mit der erforderlichen Dimension umgerechnet.

Nach Ablauf des Programms existiert für jeden Kanal eine Datei mit Meßwerten, jeweils versehen mit der Uhrzeit in Stunden, dezimal, und dem Datum. Weitere Einzelheiten enthalten die Programmablaufpläne (Abb. 16 und 17, Anhang E) oder der Datenflußplan.

4.4.2.3 Programm DAREMA

Das Programm DAREMA besteht aus mehreren Fortran-Routinen und wurde für die allgemeine Auswertung der Meßdaten mit einem Prozeßrechner der PDP-11-Serie entwickelt. Da die Fülle der Daten bei Langzeitversuchen eine visuelle Kontrolle der einzelnen Werte ausschließt, ist es erforderlich, ein möglichst effektives "Werkzeug" für deren Beurteilung zur Verfügung zu haben. Außerdem muß es aufgrund der Ablage der Daten in unformatierten Dateien (siehe Datenflußplan) ein Mittel für die Umsetzung in andere Formate geben. Diese und weitere Funktionen wurden in einem Programm zusammengefaßt, um die Verwaltung der Meßwert-Dateien übersichtlich zu gestalten und die Ablage überflüssiger Daten möglichst zu vermeiden. Einen Überblick über die mit diesem Programmpaket möglichen Vorgänge erhält man anhand des Ablaufplanes für das Hauptprogramm DAREMA (Abb. 18, Anhang E) und der kurzen Erläuterungen zur Funktion der Unterprogramme (siehe unten).

Das Programm wurde für die interaktive Bearbeitung der Daten erstellt. Dabei wurde besonderer Wert darauf gelegt, den Benutzer bei den für den Programmablauf erforderlichen Eingaben so weit wie möglich zu unterstützen und die Vorgänge möglichst transparent zu machen. Dazu werden die im Programm erstellten Informationen auf den Bildschirm ausgegeben und gleichzeitig in einer Datei protokolliert, die nach Beendung der Prozedur für die Dokumentation zur Verfügung steht.

Darüberhinaus ist es möglich, die Benutzereingaben aus einer Datei zu entnehmen, die bei jedem Aufruf vom Programm selbst erstellt und nur auf Wunsch des Benutzers wieder gelöscht wird. Diese Option dient zwei verschiedenen Zielen:

- Wenn bei langen Meßreihen oder bei solchen, die sich häufig wiederholen, stets die identische Bearbeitung der Daten vorgenommen werden soll, wird die dazu erforderliche Eingabefolge beim ersten Aufruf des Programms DAREMA erstellt und steht für alle weiteren Aufrufe zur Verfügung. Der Benutzer muß dann nur den erwartungsgemäßen Ablauf anhand des Protokolls prüfen und spart die Zeit für sich ständig wiederholende Eingaben.

- Das Programm kann auch beim sog. "closed-loop"-Betrieb eingesetzt werden, um die Meßgrößen für die Berechnung der Steuer- bzw. Regelgrößen, die an den Prozeß zurückzugeben sind, vorzubereiten. Dabei dürfte es von besonderem Vorteil sein, daß die optimale Vorbereitung der Daten zunächst in einer Terminal-Sitzung ermittelt werden kann. Anschließend wird genau diese Datenvorbereitung ohne weiteres Zutun des Benutzers für jeden Übertragungsblock wiederholt (vgl. Kapitel 4.4.2.6). Durch die Erstellung verschiedener Dateien mit Eingabewerten für die Bearbeitung mehrerer Meßwertkanäle kann das Programm innerhalb eines Zyklus mehrmals aufgerufen werden. Die Erstellung eines weiteren Programmes, das zusätzliche Fehlermöglichkeiten bieten würde, erübrigt sich somit.

Von dem Organisationsprogramm DAREMA werden die folgenden Unterprogramme aufgerufen:

AUSGFE	Ausgabe der Zeitfehler (ZUWBER) und der eliminierten Werte (DREDAE) in das Protokoll (falls erwünscht)
AUSGP1	Ausgabe des Protokolls für die Auswahl des Zeit- und Wertebereiches (ZUWBER)
AUSGP2	Ausgabe des Protokolls für die Datenreduktion (DREDAE)
AUSGWE	abschließende Ausgabe der Werte in eine unformatierte direct-access-Datei oder eine formatierte sequentielle Datei
JZSTD	Berechnung der Jahreszeit in Stunden aus Datum und Tageszeit in dezimalen Stunden
DIFQUO	Berechnung des Differentialquotienten für jeweils zwei aufeinanderfolgende Werte
AUSGP3	Ausgabe des Protokolls für die Berechnung des Differentialquotienten
JZSTD	(siehe oben)
DREDAE	Datenreduktion durch Mittelwertbildung und Eliminierung von Ausreißern
AUSGMW	Berechnung der Zeit zum Mittelwert und Ausgabe von Zeit und Meßwert in die Ausgabedatei
MITSTD	Bildung des Mittelwertes und der Standardabweichung
DREDIN	Daten für die Datenreduktion eingeben
ERRSET	Unterdrückung einer Fehlernachricht
EXIT	Programmstop
INFORM	Eingabe der Werte aus formatierten Dateien und Umspeichern in eine unformatierte direct-access-Datei
IDATE	Systemzeit und Datum einlesen
DATJZ	Berechnung des Datums und der Tageszeit in dezimalen Stunden aus der Jahreszeit in Stunden
ZUWBER	Daten im vorgegebenen Zeit- und Wertebereich aus der Gesamtmenge der Daten extrahieren
ERR01	Fehlernachrichten mit Programmabbruch (EXIT)
JZSTD	(siehe oben)
VERSNU	Umformung der dezimalen Versionsnummer in eine Oktalzahl; Eintragung der Oktalzahl in den Dateinamen

ZUWBIN Daten für die Auswahl des Zeit- und Wertebereiches
 eingeben
 DATJZ (siehe oben)
 IDATE (siehe oben)
 JZSTD (siehe oben)

4.4.2.4 Programm RUDAMA

Das Fortran-Programm RUDAMA dient der Rückgabe von Daten vom Prozeßrechner zur Anlage. Die Programmierung der dazu erforderlichen Formalia, insbesondere für Programmeingaben und -ausgaben ist vorgegeben, so daß der Benutzer nur noch die Berechnung der Rückgabewerte aus den eingelesenen Daten programmieren muß. Das Hauptprogramm RUDAMA ruft die folgenden Subroutinen in der angegebenen Reihenfolge auf:

EINDAR Die Anzahl der Rückgabekanäle, die Anzahl der einzulesenden Dateien und deren Dateinamen werden aus der Datei RUDAMA.RUD eingelesen. Anschließend werden die Meßwerte aus den entsprechenden Dateien eingelesen. Die Daten stehen im Programm für weitere Berechnungen zur Verfügung.

BERUDA In dieser Subroutine erfolgt die Berechnung des Rückgabewertes für jeden Kanal entsprechend dem vom Benutzer eingesetzten Algorithmus. Vor der Benutzung des Programmes muß für jeden Kanal ein Algorithmus an der dafür vorgesehenen Stelle eingesetzt werden.

RUECK Diese Subroutine dient der Rückgabe der berechneten Daten an das Interface, welches die Verbindung zur Anlage herstellt.

AUSRUD Die übertragenen Daten werden zusammen mit weiteren Informationen in der Datei RUDAMA.RUD abgelegt. Sie dienen im Bedarfsfall einer späteren Information des Benutzers.

Die Aufrufe der Subroutinen BERUDA, RUECK und AUSRUD erfolgen in einer Schleife, die für jeden Kanal einmal durchlaufen wird.

4.4.2.5 Prozedur LOOPMAC

Diese Prozedur erfüllt organisatorische Aufgaben bei der Datenauswertung und koordiniert den Ablauf der verschiedenen Programme. Der jeweilige Status der Prozedur wird durch Terminalausgaben transparent gemacht.

Das Programm UMDAMA wird in bestimmten, beim Start festgelegten Zeitabständen aktiviert. Die Programme DAREMA und

RUDAMA sowie zusätzliche Auswerteprogramme werden anschließend nur aufgerufen, wenn neue Daten vorliegen. Andernfalls kehrt LOOPMAC direkt in die Wartestellung zurück.

Darüberhinaus hat der Benutzer die Möglichkeit, in der Wartestellung durch Terminaleingabe weitere Abschnitte der Prozedur zu aktivieren. Es besteht z.B. die Möglichkeit, die aktuellen Meßwerte auf dem Bildschirm ausgeben zu lassen, Acetatanalysen auszuwerten und das Ergebnis in eine Datei einzutragen, die Meßwerte auf eine andere Magnetplatte zu übertragen, die Prozedur LOOPMAC vorübergehend zu unterbrechen oder zu beenden. Weitere Funktionen können bei Bedarf hinzugefügt werden.

Insbesondere besteht auch die Möglichkeit, die Auswertung der Daten weiterer Mikroprozessoren in diese Prozedur einzubeziehen. Dadurch können sämtliche Auswerteprogramme in einem Prozeßrechner von einem Terminal aus gesteuert werden.

Kapitel V

ANALYTIK

Die komplexe Zusammensetzung von Fermentationsmedien erfordert eine Vielzahl von analytischen Methoden, deren Bedeutung und Aussagekraft vom jeweiligen Prozeß und der Fragestellung abhängen. In diesem Kapitel werden die wichtigsten analytischen Methoden für die Untersuchungen zum Acetatabbau beschrieben, soweit diese nicht bereits durch die Meßstellenliste zum 150-l-Fermenter (Tabelle 2) hinreichend genau erklärt sind. Es wird eine Untergliederung in drei Teile vorgenommen:

1. kontinuierliche Messungen

Hierunter sind jene Meßmethoden zu verstehen, die in die Anlage integriert werden können und ein kontinuierliches Meßsignal liefern. Sie sind von größter Bedeutung, da sie nicht nur die direkte Beobachtung des Prozeßzustandes ermöglichen, sondern auch als Steuergrößen für die Prozeßrechnerkopplung der Anlage geeignet sind.

2. diskontinuierliche Messungen

Diese Methoden erfordern eine manuelle oder automatische Probenahme und können nur in diskreten Zeitabständen einen Meßpunkt liefern. Der zeitliche Abstand der Meßpunkte ist von der Änderungsgeschwindigkeit der Größe und von der Dauer einer Analyse abhängig.

3. sonstige Messungen

Hier wird auf weitere Meßmethoden hingewiesen, die in dieser Arbeit nicht angewandt wurden, die jedoch für andere Fragestellungen auch von Bedeutung sein können.

5.1 KONTINUIERLICHE MESSUNGEN

5.1.1 pH-Wert

Wie bereits mehrfach erwähnt, ist der pH-Wert ein für Fermentationen sehr wichtiger Parameter, so daß die Notwendigkeit besteht, ihn möglichst genau und zuverlässig zu messen. Die Anwendung von Glaselektroden, die in der Regel zusammen mit der Referenzelektrode in sogenannte Einstabmeßketten integriert sind, ist heute die häufigste Form der pH-Messung und wurde auch für diese Arbeit benutzt. Als Referenzelektrode diente eine Ag/AgCl-Elektrode (Argenthal der Firma Ingold).

Bei der anaeroben Fermentation müssen jedoch besondere Bedingungen berücksichtigt werden, die die Messung negativ beeinflussen:

- Die in der Lösung vorhandenen Sulfidionen können durch das Diaphragma in die Referenzelektrode eindringen und die Messung durch die Ausfällung von Silbersulfid verfälschen. Zur Vermeidung derartiger Fällungen befindet sich zwischen der Meßlösung und der Referenzelektrode eine zusätzliche, silberfreie Elektrolytbrücke, die ebenfalls in die Einstabmeßkette integriert ist.
- Da die Nährmedien zusätzlich Eisen-(II)-Ionen enthalten, wird bei pH-Werten über 6 in der Lösung bereits Eisensulfid ausgefällt, das leicht an der Elektrodenoberfläche und am Diaphragma der Elektrolytbrücke adsorbiert wird. Die daraus resultierende Diffusionsschicht erhöht die Ansprechzeit der Elektrode erheblich und führt letztlich zu falschen Meßwerten, da auch deren Steilheit beeinflusst wird. Als Gegenmaßnahme kann nur die häufige Reinigung in salzsaurer Lösung und anschließende Nacheichung angewandt werden, die mindestens jeden zweiten Tag erfolgen sollte. Besondere Probleme bereiteten Elektroden, die zuvor mit Dampf sterilisiert wurden. Sie waren nach kurzer Zeit unbrauchbar.

Die redundante Auslegung der pH-Messung ist unbedingt empfehlenswert.

5.1.2 Redoxpotential

Zur Bestimmung des Redoxpotentials wurden zwei Möglichkeiten genutzt: die Anzeige mit Hilfe eines Redoxindikators und die Messung mit einer Elektrode.

Die Zugabe eines einzelnen Redoxindikators zu einer Lösung erlaubt lediglich eine Klassifizierung in Werte oberhalb oder unterhalb des Umschlagpunktes und wurde genutzt, um die Anaerobisierung der Nährmedien zu kontrollieren. Als Indikator wurde Resazurin (Diazo-resorcinol) benutzt. Das blaue Resazurin wird zunächst irreversibel zu dem violetten Resorufin reduziert, welches bei pH-Werten oberhalb von 3 reversibel zu dem farblosen Dihydroresorufin reduziert wird (69).

Die elektrische Messung von Redoxpotentialen erfolgt mit Hilfe von Metallelektroden, die elektronensensitiv und zusätzlich sensitiv für die eigenen Ionen sind (70). Für die praktische Anwendung kommen lediglich Edelmetallelektroden in Frage. Für diese Arbeit wurden Platinelektroden benutzt, deren Galvanispannung gegenüber Ag/AgCl-Bezugselektroden (Argenthal der Firma Ingold) gemessen wurde. Die Standardspannung (das ist die Galvanispannung bezogen auf die Standard-Wasserstoffelektrode) ergibt sich durch

$$E_H = E + E_{\text{Bez}} .$$

Die Standardspannung der Argenthal-Bezugselektrode beträgt bei 20°C 210.5 mV und bei 37°C 198.3 mV . Zur eindeutigen Charakterisierung der Lösung ist es erforderlich, zusätzlich

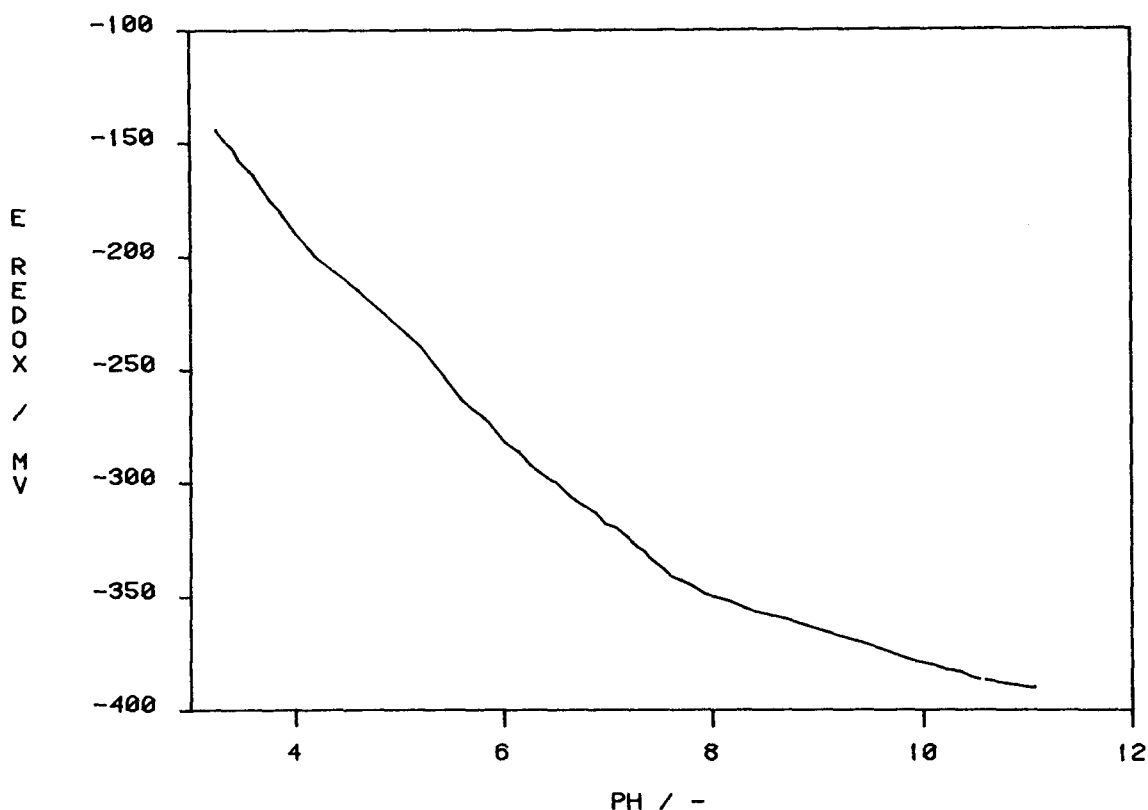


Abb. 19: Redoxpotential einer Sulfidlösung in Abhängigkeit vom pH-Wert
Sulfidkonzentration: 1.25 mmol/l; Temperatur: 25°C

zum Redoxpotential das Bezugssystem, den pH-Wert und die Temperatur anzugeben. Die Abhängigkeit der Elektrodenspannung von der Temperatur, den Ionenaktivitäten und gegebenenfalls dem pH-Wert werden durch das Nernst'sche Gesetz beschrieben.

Die Potentiale der verwendeten Nährmedien und der Kulturmedien werden im wesentlichen durch drei Effekte bestimmt:

1. Konzentration von Titan-(III)-citrat

Vor Zugabe der oxidationsempfindlichen Substanzen wird dem Nährmedium Titan-(III)-citrat hinzugefügt. Die Oxidation von Ti-(III) zu Ti-(IV) erfolgt sehr schnell, so daß Restspuren von Sauerstoff sofort entfernt werden. Bei Zugabe von 0.1 ml Ti-(III)-citrat zu einer entgasten wässrigen Lösung sinkt das Redoxpotential unter -400 mV (pH=6.9, bezogen auf Argenthal-Elektrode).

2. Totalkonzentration von Schwefelwasserstoff

Schwefelwasserstoff ist ein mittelstarkes Reduktionsmittel, das von Sauerstoff zu elementarem Schwefel oxidiert wird. Die Oxidationsgeschwindigkeit ist jedoch sehr gering (71). Die Zugabe von Sulfid zu anaerobisierten Lösungen ist sehr gut geeignet, um das Redoxpotential bei niedrigen Werten zu stabilisieren.

3. pH-Wert der Lösung

Das Redoxpotential einer Sulfidlösung ist sehr stark vom pH-Wert abhängig, da die Normalpotentiale von Schwefelwasserstoff (+141 mV), Hydrogensulfid (-479 mV) und Sulfid (-508 mV) sehr unterschiedlich sind. Abb. 19 zeigt die pH-Abhängigkeit des Redoxpotentials einer wäßrigen Lösung mit 1.25 mmol/l Sulfid.

5.1.3 Sulfidkonzentration

Für die Bestimmung des Sulfidgehaltes einer Lösung existieren einige quantitative Methoden, die im wesentlichen auf Redox- und Fällungsreaktionen beruhen (72). Außerdem gibt es von der Firma Orion eine für Silber- und Sulfidionen sensitive Festkörperelektrode, deren Potential nach entsprechender Eichung die Sulfidkonzentration anzeigt. Die Methoden sind jedoch allesamt nur diskontinuierlich einsetzbar und haben den Nachteil, sehr störeffindig zu sein.

Da die Kulturmedien weitere reduzierende Stoffe, Spuren von Schwermetallen und Eisen-(II)-sulfid enthalten, liefert keine der üblichen Methoden brauchbare Ergebnisse, obgleich sie in reinen Sulfidlösungen gut funktionieren. Es bleibt noch die Möglichkeit, im Sauren Schwefelwasserstoff destillativ zu überführen und in reiner Lösung zu bestimmen. Auch diese Methode ist nur diskontinuierlich einsetzbar und zudem sehr arbeitsaufwendig.

Eine weitere Möglichkeit zur Bestimmung des Partialdruckes von Schwefelwasserstoff oder der Gesamtsulfid-Konzentration besteht durch eine sogenannte rS-Meßkette (Typ Ag-275-85 der Firma Ingold²), (73), (74). In dieser Einstabmeßkette ist eine Silber/Silbersulfid-Elektrode mit einer pH-Elektrode kombiniert. Durch die Sensitivität für Sulfidionen einerseits und Wasserstoffionen andererseits ergeben sich folgende Anwendungen:

- Bestimmung der Konzentration des freien Schwefelwasserstoffes oder dessen Partialdruckes bei wechselnden pH-Werten.
- Bestimmung der Konzentration des Gesamtsulfids bei konstantem pH-Wert. Da unter pH 6 praktisch nur freier Schwefelwasserstoff vorliegt, wird per se das Gesamtsulfid gemessen.

² Der Firma Ingold danke ich für die kostenlose Überlassung eines Probeexemplares.

5.1.4 Menge und Zusammensetzung des Biogases

Der Biogasstrom wurde durch einen thermischen Massendurchflußmesser erfaßt. Der Gasstrom oder ein definierter Teil desselben wird in dem Sensor (Firma Brooks) durch eine Meßkapillare geleitet, an der sich zwischen zwei Meßspulen eine Heizspule befindet. Der Wärmetransport durch das Gas bewirkt eine Differenz des elektrischen Widerstandes zwischen den beiden Meßspulen. Der Abgleichstrom einer Meßbrücke wird verstärkt und als Meßsignal verwendet. Da die Wärmeübertragung von der Gaszusammensetzung abhängt, muß das System für die jeweiligen Bedingungen geeicht werden.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, daß die in den Sensoren enthaltenen Sintermetall-Fritten durch Schwefelwasserstoff angegriffen werden, so daß eine regelmäßige Nacheichung - gegebenenfalls der Austausch der Fritten - erforderlich ist.

Nach der Reaktionsgleichung erhält man beim Essigsäureabbau für die molare Zusammensetzung des Biogases 50 % Methan und 50 % Kohlendioxid. Aufgrund der unterschiedlichen Löslichkeit der beiden Gase in Wasser weichen die gemessenen Werte jedoch hiervon ab. Der Methangehalt beträgt in der Regel 50 ... 55 %, und der Kohlendioxidgehalt 45 ... 50 %. Außerdem enthält das Gas bis zu 1 % Schwefelwasserstoff und bis zu 1 % Wasser, die jedoch nicht genau bestimmt wurden.

Die Methan- und die Kohlendioxidkonzentrationen wurden durch einen Infrarot-Gasanalysator (BINOS, Firma Leybold-Heraeus) bestimmt. Für jede Komponente enthält das Gerät einen Meßkanal, der auf eine bestimmte Wellenlänge im Infrarotbereich eingestellt ist, die von der jeweiligen Substanz absorbiert wird. Die Absorption als Maß für die Konzentration wird durch einen speziellen Detektor in ein kontinuierliches elektrisches Meßsignal umgeformt.

Der Gasfluß und die Methankonzentration bieten eine weitere Möglichkeit, den Umsatz bei der Acetatfermentation zu bestimmen. Dazu muß die pro Volumeneinheit gebildete Methanmenge berechnet werden. Außerdem kann man anhand der Gaszusammensetzung den Anteil des in Wasser gelösten Kohlendioxids berechnen. Diese Konzentration muß bei Kohlenstoffbilanzen berücksichtigt werden.

5.2 DISKONTINUIERLICHE MESSUNGEN

5.2.1 Bestimmung der Acetatkonzentration

Die Konzentration der Essigsäure ist einer der wichtigsten Prozeßparameter beim anaeroben Acetatabbau, so daß eine möglichst schnelle und zuverlässige Analysenmethode erforderlich ist. In dieser Arbeit wurde eine gaschromatographische Analyse nach der Methode des internen Standards

angewandt (75). Als interner Standard diente Propanol-2. Tabelle 5 enthält die relevanten GC-Daten; Abb. 20 zeigt ein typisches Chromatogramm mit dem Protokoll des Integrators.

TABELLE 5

Daten für die gaschromatographische Acetatbestimmung

Injektor		
Temperatur	300°C	
Material innen	Glas	
kein Split		
Säule		
Material	Glas	
Maße:		
Länge	2 m	
Außendurchmesser	6 mm	
Innendurchmesser	2 mm	
Füllung	Porapak QS; 80/100 mesh	
Trägergas	Stickstoff	
Volumenstrom	33 ml/min	
Betriebsweise	ohne Referenzsäule; kein Temperaturprogramm	
Temperatur	190°C	
Detektor		
Typ	Flammenionisation (FID)	
Temperatur	300°C	
Volumenstrom		
Wasserstoff	45 ml/min	
synth. Luft	490 ml/min	

Für die Trennung der niederen Carbonsäuren werden in der Literatur mehrere Trennfüllungen genannt (76), (77), wie z.B. SP1200 auf Chromosorb und Porapak Q. Die veröffentlichten Ergebnisse sind jedoch schwer zu vergleichen und liefern kein einheitliches Bild. Daher wurden drei Trennfüllungen getestet: 10 % SP1200 und 1 % Phosphorsäure auf Chromosorb WAW, 80/100 mesh; Porapak Q, 80/100 mesh; Porapak QS, 80/100 mesh. Die besten Ergebnisse wurden auf Porapak QS erzielt. Die Belegung von Porapak Q mit 2 % Phosphorsäure, die eine zu starke Adsorption der Essigsäure verhindern sollte, brachte keine Vorteile. Die relativ hohe Injektortemperatur von 300°C ist erwähnenswert, da bei 200°C unter sonst gleichen Bedingungen wesentlich schlechtere Ergebnisse erzielt wurden. Vermutlich ver-

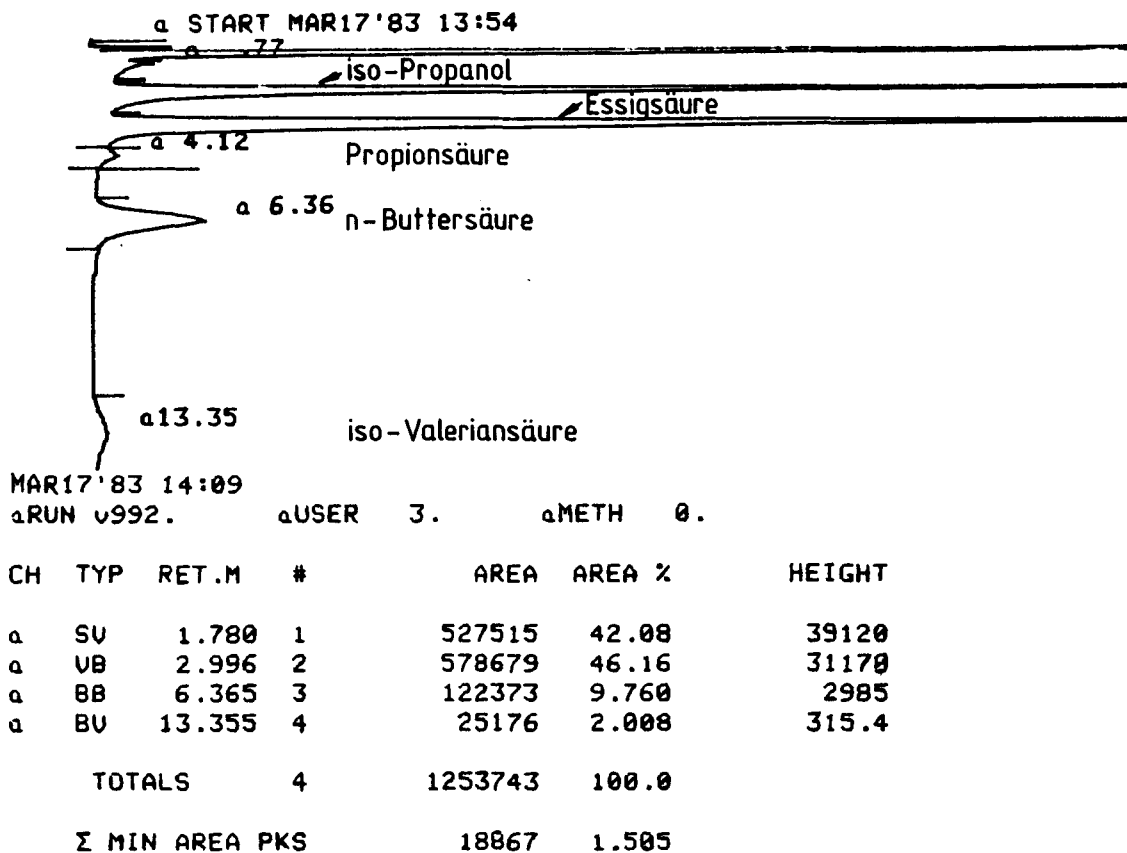


Abb. 20: Chromatogramm einer Fermenterprobe mit internem Standard Propanol-2

hindert diese hohe Temperatur zusammen mit einem hohen Trärgasstrom die Bildung von Säureanhydriden oder Estern. Um die Bildung von Acetaten im Injektorraum zu verhindern, wurden die Proben stets mit Salzsäure angesäuert. Zur Vermeidung von Korrosionsproblemen bestand der gesamte analytische Teil innen aus Glas.

Die Analysenmethode mußte so ausgearbeitet werden, daß zwei wesentliche Probleme umgangen werden:

- Empfindlichkeit der Säule gegen Überladung mit Essigsäure oder Wasser;
- geringer Linearitätsbereich des Quotienten der Peakflächen.

Da der größte Teil der Proben im unteren Konzentrationsbereich bis ca. 20 mmol/l Acetat anfällt, wurde die Analyse zunächst für diesen Bereich optimiert. Bei einer Einspritzmenge von 0.6 µl und einer Propanolkonzentration von 2.5 mmol/l in der einzuspritzenden Probe ergeben sich für Acetatkonzentrationen von 1 bis 10 mmol/l günstige Peakgrößen und ein brauchbares Verhältnis der Peakflächen. Als Beispiel sei die folgende Eichgerade genannt:

$$QAREAS = \text{Fläche}(\text{Acetat}) / \text{Fläche}(\text{Propanol-2})$$

$$QAREAS = 0.0253 * c(\text{Acetat}) - 0.0217$$

TABELLE 6

Verdünnungsreihe für die Acetatbestimmung

Bedeutung der Spalten:

Verdünnung	Die Probe wird nach der Mischung mit internem Standard im Verhältnis 1:1 n-mal im Verhältnis 1:1 mit Wasser verdünnt.
c_{Iso}	Konzentration von Propanol-2 in der Lösung des internen Standards (vor der Verdünnung mit der Probe).
c_{HAc}	Konzentrationsbereich für Essigsäure in der zu analysierenden Probe (vor der Verdünnung mit internem Standard).

Verdünnung n	c_{Iso} / mmol/l	c_{HAc} / mmol/l
0	5	2 ... 20
1	10	4 ... 20 ... 40
2	20	8 ... 40 ... 80
3	40	16 ... 80 ... 160

Da die Lösung mit internem Standard vor der Einspritzung im Verhältnis 1:1 mit der zu analysierenden Probe verdünnt wird, ergibt sich für die Acetatkonzentrationen $c(\text{Acetat})$ in der Probe der Konzentrationsbereich 2 bis 20 mmol/l.

Um Proben, die mehr als 20 mmol/l Acetat enthalten, in gleicher Weise analysieren zu können, wird der interne Standard mit höherer Konzentration zugegeben. Anschließend werden die Proben so weit mit Wasser verdünnt, daß die Konzentrationen im Bereich 1 bis 10 mmol/l liegen. Tabelle 6 zeigt eine Übersicht der erforderlichen Standardlösungen und der resultierenden Konzentrationen.

Nach der Mischung der zu analysierenden Lösung und der Lösung mit internem Standard im Verhältnis 1:1 erreicht man die erforderliche Verdünnung am zweckmäßigsten, indem man für die Verdünnung n die jeweilige Lösung n-mal im Verhältnis 1:1 mit Wasser verdünnt. Da das Verhältnis interner Standard zu Acetat bereits bei der ersten Mischung festgelegt wird, entstehen keine zusätzlichen Verdünnungsfehler. Das Abmessen von jeweils 0.75 ml Lösung erfolgt mit einer einstellbaren Eppendorf-Pipette, so daß für eine Analyse lediglich 1 ml Probelösung erforderlich ist.

Lösungen mit mehr als 160 mmol/l Acetat werden zweckmäßigerweise mit Wasser vorverdünnt. Analysen im Konzentrationsbereich unter 2 mmol/l waren für die durchgeführten Arbeiten nicht erforderlich.

Pro Analyse werden drei Einspritzungen durch einen automatischen Probengeber vorgenommen. Zur quantitativen Auswertung erfolgt eine Mittelwertbildung über die Quotienten der Peakflächen. Die Essigsäurekonzentration erhält man durch Einsetzen des Mittelwertes in folgende Gleichung:

$$c(\text{Acetat}) = 2^n * (QAREAS - a_0) / a_1$$

n: Verdünnungsfaktor (siehe Tabelle 6)

$$a_0 = -0.0217 \qquad a_1 = 0.0253$$

Die gesamte Auswertung erfolgte mit Hilfe eines Fortran-Programmes.

Bei guter Konditionierung der Säule und guter Basislinie des FID (Grundsignal < 30 pA) ist die Reproduzierbarkeit in der Regel besser als 1 %. Auch bei Berücksichtigung der Fehlerfortpflanzung, die aus Abweichungen von der Eichgeraden entstehen, erhält man Analysenfehler von weniger als 3 % Standardabweichung. Die Analysenzeit für eine Probe beträgt nach dieser Methode ca. 45 Minuten.

Zur Vorbereitung der Proben werden Suspensionen vor dem Zusatz des internen Standards bei 15000 Upm (ca. 17500 g) zentrifugiert. Außerdem enthält die Lösung mit internem Standard 200 mmol/l Salzsäure zum Ansäuern der Proben.

5.2.2 Bestimmung der Biotrockenmasse

Zur Bestimmung der Biotrockenmasse wurden zwei Methoden für die Abtrennung der Bakterien angewandt:

- Zentrifugation

Die Suspensionen werden bei 15000 Upm (ca. 17500 g) in Polycarbonatröhrchen 10 Min. zentrifugiert und die überstehende Lösung dekantiert.

- Filtration

Die Suspensionen werden mit Hilfe eines Wasserstrahlvakuums durch Membranfilter aus Cellulosenitrat mit einer Porenweite von 1.2 µm (Sartorius Typ SM 11303) abgenutscht.

Die übrigen Arbeitsschritte sind für beide Methoden identisch:

- Die Filter (bzw. die Zentrifugenröhrchen) werden bei 105°C 16 Std. im Trockenschrank getrocknet. Nach 30 Min. Abkühlzeit im Exsikkator werden sie auf der Analysenwaage gewogen.

- Die Probe wird mit Salzsäure (10 mol/l, 10 ml auf 200 ml) angesäuert, um Eisensulfid zu lösen. 25 ... 50 ml der Lösung werden filtriert (bzw. zentrifugiert). Der Niederschlag wird zweimal mit Salzsäure (0.5 mol/l) gewaschen.
- Der Niederschlag wird mit dem Filter (bzw. dem Zentrifugenröhrchen) 16 Std. bei 105°C getrocknet und nach 30 Min. Abkühlzeit gewogen.
- Die Biotrockenmasse wird unter Berücksichtigung der Verdünnung mit Salzsäure aus dem Nettogewicht berechnet. Die unlöslichen Sulfide der Spurenelemente, die dabei mitgewogen werden, sind vernachlässigbar (weniger als 5 mg/l).

Bei Anwendung der Zentrifugation ergaben sich sehr hohe Standardabweichungen, die wahrscheinlich auf das sehr hohe Taragewicht der Zentrifugenröhrchen zurückzuführen sind. Daher wurde vornehmlich die Filtration angewandt, wobei die Standardabweichungen in der Regel unter 3 % lagen. Hierbei verstopften die Filter bei manchen Proben jedoch sehr leicht, so daß sehr lange Filtrationszeiten erforderlich waren und das Probenvolumen auf 25 ml herabgesetzt werden mußte.

5.3 SONSTIGE ANALYTISCHE METHODEN

5.3.1 Massenbilanz für Kohlenstoff

Die Vielfalt der Messungen bei der kontinuierlichen Fermentation erfordert eine Methode, mit der man möglichst schnell die Zuverlässigkeit der Werte prüfen kann. Da es nicht möglich ist, während des Betriebes die Eichung aller Meßgeräte in kurzen Abständen (z.B. täglich) zu kontrollieren, bietet die C-Bilanz einen gewissen Ersatz.

Der Kohlenstoff ist in allen wichtigen Medienströmen enthalten, so daß einige Meßgrößen in die Bilanz eingehen. Der prozentuale Einfluß der verschiedenen Werte auf etwaige Abweichungen differiert allerdings und muß bei der Beurteilung berücksichtigt werden. Außerdem ist das Resultat lediglich eine globale Größe, die keine Fehlerlokalisierung erlaubt.

Im einzelnen sind folgende Bestandteile zu berücksichtigen:

- Essigsäure im Substrat,
- Essigsäure im Produkt,
- Kohlensäure im Produkt,
- Biotrockenmasse im Produkt,
- Methan im Abgas,
- Kohlendioxid im Abgas.

Die Kohlensäure im Substrat und weitere C-enhaltende Verbindungen (z.B. Vitamine) können in diesem Fall vernachlässigt werden.

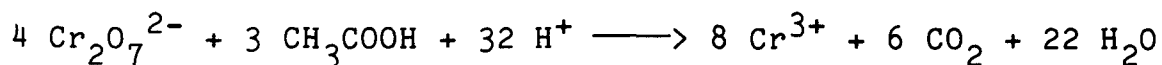
Ein Schema für die Berechnung der C-Bilanz und ein Beispiel befinden sich in Anhang B.

5.3.2 Chemischer Sauerstoffbedarf

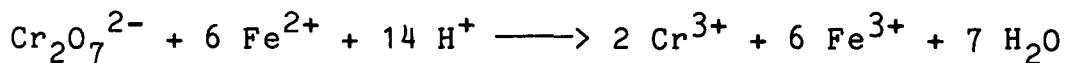
Der chemische Sauerstoffbedarf (CSB oder COD für chemical oxygen demand) wird im Rahmen des neuen Abwasserabgabengesetzes (vgl. Kap. 1) zur quantitativen Bestimmung der organischen Inhaltstoffe ermittelt und dient als Bemessungsgröße für die zu entrichtenden Abgaben. Im Unterschied zum biologischen Sauerstoffbedarf (BSB oder BOD) werden hierbei auch schwer abbaubare Stoffe erfaßt.

Definitionsgemäß ist der CSB diejenige Sauerstoffmenge, die benötigt wird, um die organischen Bestandteile vollständig zu Kohlendioxid und Wasser zu oxidieren. Die Oxidation kann nach verschiedenen Methoden erfolgen, wobei die Resultate jedoch von Methode zu Methode schwanken können. Bei einer der Standardmethoden wird Kaliumdichromat als Oxidationsmittel eingesetzt (78). Als Katalysator wird Quecksilbersulfat zugesetzt; die Lösung wird mit konz. Schwefelsäure angesäuert. Störende Chloridionen werden durch den Zusatz von Silbersulfat gefällt.

Die Oxidation der Essigsäure erfolgt z.B. entsprechend der folgenden Reaktionsgleichung:



Anschließend wird überschüssiges Dichromat mit Ammonium-eisen-(II)-sulfat titriert:



In dieser Arbeit wurde der CSB nicht bestimmt, da das angewandte Modellabwasser lediglich Essigsäure als organischen Bestandteil enthielt (geringe Vitaminmengen waren vernachlässigbar). Deren Sauerstoffbedarf kann leicht rechnerisch ermittelt werden. Aus der Reaktionsgleichung ergibt sich ein theoretischer Wert von 64 g Sauerstoff pro Mol Essigsäure.

5.3.3 Kohlenstoffbestimmung in wäßriger Lösung

Bei der quantitativen Bestimmung von Kohlenstoffverbindungen in wäßriger Lösung lassen sich drei Klassen unterscheiden, die durch entsprechende Analytikgeräte erfaßt werden können:

TIC Total Inorganic Carbon

Der anorganische Kohlenstoff umfaßt den als Carbonat, Hydrogencarbonat und Kohlendioxid gelösten Kohlenstoff. Er wird erfaßt, indem man die Lösung mit Schwefelsäure ansäuert und das ausgetriebene Kohlendioxid in der Gasphase IR-spektroskopisch bestimmt. Das restliche Kohlendioxid, das in sauren, wäßrigen Lösungen gelöst ist, wird dabei nicht erfaßt.

DOC Dissolved Organic Carbon

Der gelöste organische Kohlenstoff kann nach dem Entfernen des TIC ermittelt werden, indem man die gelösten Kohlenstoffverbindungen mit Hilfe eines Sauerstoffstromes unter Bestrahlung mit UV-Licht (Bildung von Ozon) oxidiert und das entstehende Kohlendioxid im Sauerstoffstrom (IR-Analysator) bestimmt. In der Lösung enthaltene Partikel werden dabei nicht erfaßt.

TOC Total Organic Carbon

Will man zusätzlich zum gelösten Kohlenstoff auch die in Partikeln (z.B. Bakterien) enthaltenen Kohlenstoffverbindungen erfassen, so muß die Oxidation in einem Katalysatorofen bei stark erhöhter Temperatur erfolgen. Das entstehende Kohlendioxid wird ebenfalls mit dem Sauerstoffstrom entfernt und im IR-Analysator bestimmt.

Entsprechende Geräte werden z.B. von der Firma Maihak in der Serie Unor (20) angeboten. Die Bestimmung dieser drei Größen kann für die Kohlenstoffbilanz bei Fermentationen sehr hilfreich sein, wurde jedoch in dieser Arbeit nicht durchgeführt. Außerdem könnte der TOC prinzipiell auch als Bemessungsgrundlage für Abwasserabgaben genutzt werden.

Kapitel VI

VERSUCHSERGEBNISSE UND AUSWERTUNG

6.1 ZUSAMMENSETZUNG UND ANSATZ DER NÄHRMEDIEN

Die Zusammensetzung der Nährmedien basiert auf den Arbeiten von Scherer (17), (18), (19). Änderungen der Zusammensetzung erfolgten lediglich aufgrund geänderter Kulturbedingungen. Zum Einfluß von Nickel sei noch auf die Arbeiten von Diekert et al. (79) und Murray et al. (80) verwiesen. Während der Arbeiten wurde festgestellt, daß die von Scherer angegebene Nickelkonzentration unzureichend ist. Es ist zu vermuten, daß bei den Batch-Kulturen zusätzliches Nickel aus den Injektionsnadeln herausgelöst wurde.

Als alleinige C-Quelle wurde dem Nährmedium Acetat zugesetzt. Die weiteren Bestandteile des Mediums sind in Tabelle 7 für zwei verschiedene Acetatkonzentrationen zusammengefaßt. Während die Versuche im 2-l-Maßstab mit 100 mmol/l Acetat erfolgten, wurden die späteren Versuche, insbesondere die kontinuierlichen, mit 300 mmol/l Acetat durchgeführt. Dabei wurden die Konzentrationen der wichtigsten Nährstoffe erhöht, um Limitierungen zu vermeiden.

Außerdem enthält die Tabelle 7 die Ergebnisse der Elementaranalyse³ einer filtrierten Produktlösung aus einer kontinuierlichen Fermentation im 150-l-Fermenter. Die Analysenergebnisse zeigen, daß das Wachstum der Bakterien durch keine der zugegebenen Komponenten limitiert wird. Vielmehr ist die Restkonzentration einiger Bestandteile so hoch, daß die Menge dieser Nährstoffe reduziert werden kann.

Da sich während der Versuche eine Mischkultur von *M. barkeri* mit sulfatreduzierenden Bakterien entwickelte (siehe unten), erübrigte sich bei den kontinuierlichen Fermentationen die Zugabe von Sulfid zum Nährmedium. Außerdem wurde hier auf die Zugabe von Antibiotika verzichtet.

Die Arbeitsvorschriften für das Ansetzen der Nährlösungen befinden sich im Anhang D. Während für die Batch-Versuche und die kontinuierlichen Versuche im 12-l-Maßstab alle Substanzen in einer Substratlösung zugefügt wurden, erfolgte bei den Versuchen im 150-l-Fermenter eine Aufteilung in zwei Substratströme.

Der eine, Substrat 2 genannt, enthält die Spurenelemente, die Vitamine und sonstige Bestandteile, die nur in geringer Konzentration zugegeben werden müssen. Diese Lösung wird mit 20-facher Konzentration angesetzt, so daß der Volumenstrom lediglich 5 % des Gesamtvolumenstromes betragen muß.

Die andere Lösung, Substrat 1 genannt, enthält neben der Essigsäure die Alkalisalze und Phosphat, da diese sich nicht in 20-facher Konzentration lösen würden. Die Aufteilung der Substratzugabe hat den Vorteil, daß bei der Behandlung von

³ Die Elementaranalysen (OES-ICP) wurden freundlicherweise von Dr. Wolff und Mitarbeitern (Zentralabteilung für chemische Analyse der KFA) durchgeführt.

TABELLE 7

Zusammensetzung der Nährmedien

Substrat, Nährsalze	mmol/l	mmol/l	mmol/l
			*
Essigsäure	100	300	
Phosphat	3	10	
Imidazol	40	-	
Calciumchlorid	2	2	1.78
Magnesiumchlorid	2	2	2.06
Ammoniumchlorid	14	42	
Kaliumchlorid	5	5	2.66
Natriumchlorid	35	35	80.87
			(NaOH!)
Spurenelemente	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Kobaltchlorid	10	10	5.43
Nickelchlorid	5	5	3.07
Natriummolybdat	3.3	3.3	1.80
Natriumselenit	1	1	
Mangansulfat	24.9	24.9	14.47
Zinksulfat	6.3	6.3	5.50
Kupferchlorid	2	2	1.41
Titriplex I (Nitrilotriessigsäure)	26.2	26.2	
Vitamine	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Flavinmononucleotid	2.5	2.5	
Folsäure	0.2	0.2	
Antibiotika	mg/l	mg/l	mg/l
Penicillin G, Na-Salz	1	-	
Cycloserin	1	-	
Indikator	mg/l	mg/l	mg/l
Resazurin	1	1	
Reduktionsmittel	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Titan-III-citrat	150	150	
L-Cystein-hydrochlorid	850	850	
Ammoniumeisen-II-sulfat	200	200	173.0
Natriumsulfid	1250	-	

* Analysenwerte für die Produktlösung;

U = 88.7 % bei $S_0 = 300$ mmol/l; BTM = 660 mg/l

Die Angaben beziehen sich auf das Hauption des Nährsalzes
(in der Regel das Kation); Methode: OES-ICP

Brüdenkondensat nicht sämtliche Bestandteile des Nährmediums dem gesamten Volumenstrom zugemischt werden müssen. Da die oxidationsempfindlichen Bestandteile sämtlich in Substrat 2 enthalten sind, muß Substrat 1 nicht anaerobisiert werden, sofern das erforderliche Redoxpotential im Fermenter durch die Kultur (Sulfatreduzierer) aufrechterhalten wird.

Sämtliche Versuche wurden bei einer Temperatur von 37°C durchgeführt. Der Überdruck betrug bei den Batch-Kulturen maximal 1.2 bar, bei den kontinuierlichen Versuchen maximal 0.5 bar. Die kontinuierlichen Kulturen wurden schwach gerührt. Dies erfolgte im 150-l-Fermenter durch ein Bodenrührblatt mit einer Drehzahl von 150 Upm. Der pH-Wert im Substrat wurde für die Batch-Kulturen auf 5.8 pH-Einheiten eingestellt, für die kontinuierlichen Versuche auf 3.9 pH-Einheiten.

6.2 VORVERSUCHE IN BATCH-KULTUREN

Für die ersten Kulturen, die satzweise im 2-l-Maßstab durchgeführt wurden (zur Arbeitsweise siehe Kapitel 4.1), stand ein Stamm⁴ der Spezies *M. barkeri* strain Fusaro (DSM 804) zur Verfügung. Nach einigen Vorversuchen, die lediglich dem Erlernen der entsprechenden Arbeitstechniken dienten, wurden Daten zur Wachstumsrate und zum pH-Optimum ermittelt. Zur Auswertung der Messungen wurde der Überdruck in Mole gebildetes Biogas umgerechnet. Die Umrechnung erfolgte unter der Voraussetzung idealen Gasverhaltens und berücksichtigte das Volumen der Meßkammer des Manometers und das Volumen von entnommenen Flüssigkeitsproben. Die Berechnungen erfolgten mit Hilfe eines Fortranprogrammes, welches gleichzeitig dazu diente, das Ergebnis auf einem Plotter darzustellen. Abb. 21 zeigt ein Beispiel für die Biogasbildung während des Bakterienwachstums.

Bei der Interpretation dieser Daten ist zu berücksichtigen, daß diese Messungen mehrere Nachteile aufweisen, die zu ungenauen oder schlecht reproduzierbaren Parametern führen können. Die folgenden Nachteile seien genannt:

- Eine gleichbleibende Qualität des Inokulums ist mit Batch-Kulturen nur schwer zu erzielen.
- Nach dem Animpfen treten unterschiedlich lange lag-Phasen auf.
- Während des Wachstums ändern sich der pH-Wert, die Substratkonzentration und die Kohlendioxid-Löslichkeit.
- Die Messung der Gasbildung anhand des Überdruckes ist nicht sehr genau.

⁴ Die Startkulturen wurden freundlicherweise von Herrn Dr. Scherer und Herrn Dr. Aivasidis (Institut für Biotechnologie der KFA) zur Verfügung gestellt.

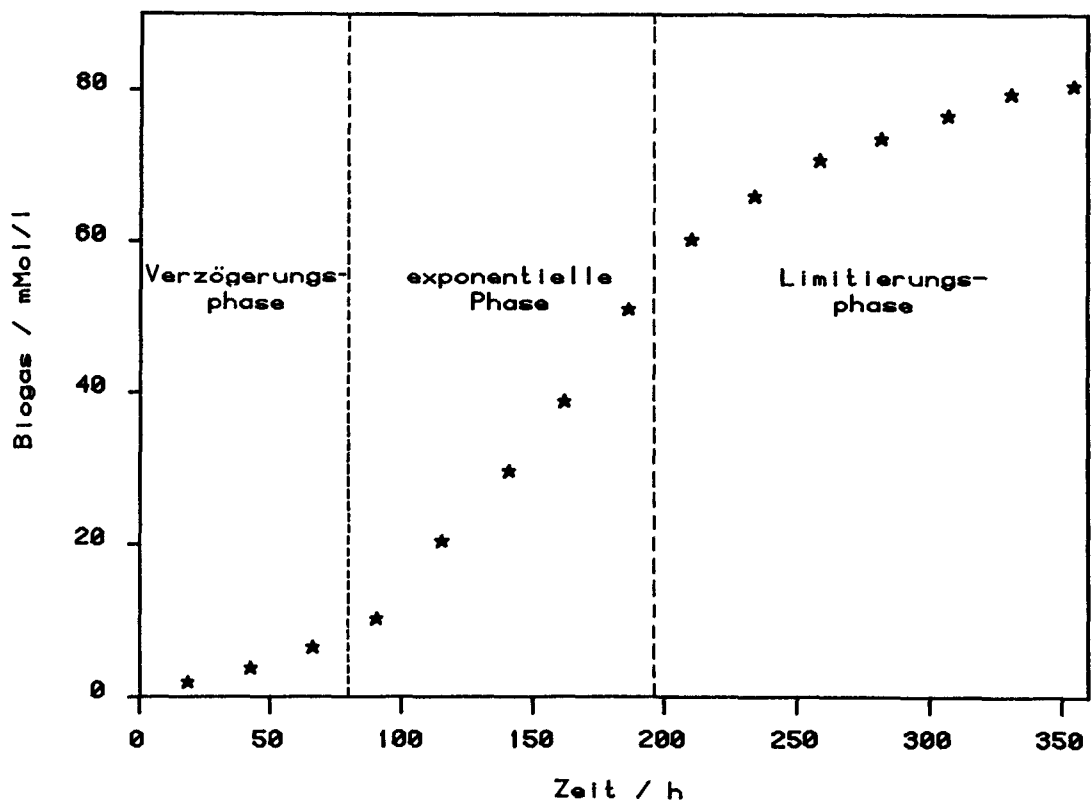


Abb. 21: Biogasbildung in einer geschlossenen Batch-Kultur

6.2.1 Bestimmung der Wachstumsrate

Die Bestimmung der Wachstumsrate erfolgte aus den Messungen der Biogasbildung unter der Voraussetzung, daß diese unmittelbar mit dem Wachstum gekoppelt ist. Diese Voraussetzung ist zulässig, da der Maintenance-Faktor für diesen Stamm sehr klein ist und der weitaus größte Teil des Substrates für die Energiegewinnung zu Gas umgesetzt wird (56).

Abb. 21 zeigt ein Beispiel für eine Wachstumskurve. Die Wachstumsrate wurde durch eine nichtlineare Regression (Exponentialgleichung) mit den Meßpunkten der exponentiellen Phase bestimmt.

Es wurden Wachstumsraten für 27 Kulturen bestimmt, wobei sich allerdings kein konstanter Wert ergab. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengefaßt. Sieht man von einigen Zufallsschwankungen ab, so wird aus der zeitlichen Folge der Werte deutlich, daß das Wachstum der Kulturen ohne besondere Maßnahmen erheblich verbessert werden konnte. Die Wachstumsrate vergrößerte sich von 0.0017 /h auf 0.0064 /h, was Verdopplungszeiten von 408 h bzw. 108 h entspricht.

Aus dem letztgenannten Wert ergibt sich für den Wash-out einer kontinuierlichen Kultur eine Verweilzeit von 6.5 Tagen. Es war zu erwarten, daß dieser Wert durch die Verbesserung der Kulturbedingungen in kontinuierlichen Fermentationen noch verringert werden könnte.

TABELLE 8

Wachstumsraten aus Batch-Versuchen

Datum 1980	μ / 1/h	Datum 1980	μ / 1/h	Datum 1981	μ / 1/h
11.10.	0.0017	13.11.	0.0027	6.1.	0.0021
13.10.	0.0023	13.11.	0.0031	19.1.	0.0030
17.10.	0.0027	18.11.	0.0033	26.1.	0.0038
17.10.	0.0016	21.11.	0.0034	26.1.	0.0036
17.10.	0.0022	3.12.	0.0029	26.1.	0.0036
24.10.	0.0017	3.12.	0.0028	26.1.	0.0032
24.10.	0.0015	11.12.	0.0027	2.2.	0.0050
10.11.	0.0023	11.12.	0.0031	2.2.	0.0034
10.11.	0.0027	19.12.	0.0033	9.2.	0.0064

6.2.2 Untersuchungen zum pH-Optimum

Vor Beginn der kontinuierlichen Fermentationen wurden Versuche zur Lage des pH-Optimums gemacht, die mit möglichst einfachen Mitteln durchgeführt wurden. Da beim Abbau der Essigsäure die Fixierung des pH-Wertes eine sehr große Pufferkonzentration bedingen würde, wurde versucht, den pH-Wert und die Acetatkonzentration durch eine quasikontinuierliche Führung der 2-l-Batch-Kulturen zumindest in gewissen Grenzen konstant zu halten. Dazu wurden den Kulturen täglich 10 % der enthaltenen Lösung entnommen und durch frisches Nährmedium ersetzt. Entnahme und Zugabe erfolgten mit einer Injektionsspritze (60 ml) und konnten daher bei geschlossenem Gefäß durchgeführt werden. Der Essigsäureabbau wurde - wie oben beschrieben - anhand des Druckanstieges verfolgt. Sobald der Druck 1 bar überschritten hatte, wurde ein Teil des Gases abgelassen.

Ein Vergleich der Messungen von 8 verschiedenen Kulturen zeigte bezüglich der Abhängigkeit der Biogasbildung vom pH-Wert ein uneinheitliches Bild, aus dem sich nicht direkt ein pH-Optimum ableiten ließ. Um anhand dieser Messungen noch eine Aussage machen zu können, wurde eine statistische Auswertung vorgenommen, deren Ergebnis in Abb. 22 dargestellt ist.

Der pH-Bereich von 5.6 bis 7.2 wurde in Stufen von 0.1 pH-Einheiten unterteilt. Jeder Wert für die Biogasbildung wurde einer dieser Stufen zugeordnet, indem der zugehörige pH-Wert gerundet wurde.

Im oberen Achsenkreuz der Abb. 22 sind die Mittelwerte (*) aller zu einer pH-Stufe gefundenen Werte für die Biogasbildung gegen den pH-Wert aufgetragen. Der Balken entspricht der jeweiligen Standardabweichung. Außerdem sind die Maximalwerte (o) der Biogasbildung eingezeichnet.

Im unteren Achsenkreuz ist in Form eines Blockdiagramms die Anzahl der zu jeder pH-Stufe gefundenen Werte für die Biogasbildung, die größer als 5 mmol/l/d sind, aufgetragen.

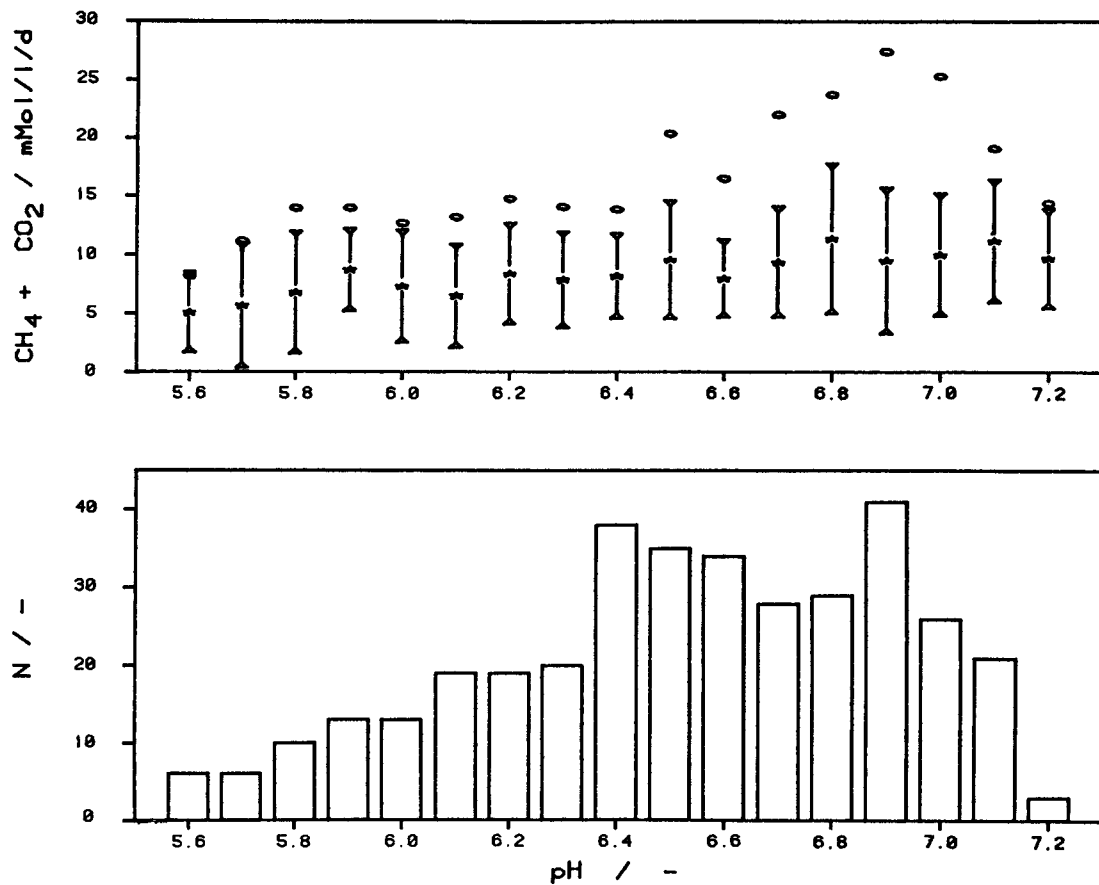


Abb. 22: Statistische Auswertung zum pH-Optimum

Der Essigsäureabbau erfolgt bei gegebenen Kulturbedingungen und gegebener Aktivität der Bakterien selbstregelnd, sofern der pH-Wert des Substrates nicht so niedrig ist, daß der Umsatz durch die wechselseitig bedingte Aktivitätsabnahme und gleichzeitige pH-Wertabnahme immer weiter sinkt. Daher kann man die Häufigkeit des Auftretens eines bestimmten pH-Wertes als Maß für die relative Aktivität der Bakterien benutzen. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß das System nur bei Werten oberhalb des pH-Optimums stabil ist, wodurch die resultierenden Werte für das Optimum etwas zu hoch sind.

Die Auswertungen ergeben folgendes Fazit:

- Der Essigsäureabbau durch *M. barkeri* zeigt kein ausgeprägtes pH-Optimum. Vielmehr ist davon auszugehen, daß entsprechende Kulturen ohne nennenswerte Aktivitätsverluste an pH-Werte im Bereich von 6 bis 7 adaptiert werden können.
- Die Mittelwerte für die Biogasbildung zeigen in diesem Bereich kein signifikantes Maximum.
- Die Maximalwerte für die Biogasbildung weisen ein Maximum im Bereich von pH 6.5 bis 7 auf.
- Die Häufigkeit der Werte weist auf ein Maximum im Bereich von pH 6.5 hin.

Bei der Interpretation dieser Ergebnisse ist eine gewisse Vorsicht geboten, da eine sehr große Streuung der Werte vorlag. Es sei hier jedoch vorweggenommen, daß die kontinuierlichen Versuche dieses Ergebnis bestätigten. Auf eine genauere Bestimmung des pH-Optimums wurde verzichtet, da auch die Hinweise auf eine gute Adaptionsfähigkeit der Kulturen bestätigt wurden.

6.3 ÜBERTRAGUNG IN KONTINUIERLICHE KULTUREN

Die Übertragung des Essigsäureabbaus in kontinuierliche Kulturen erfolgte mit Hilfe der in Kapitel 4.2 beschriebenen Anlage. Um für die Animpfung eines 12-l-Fermenters möglichst viel Inokulum zur Verfügung zu haben, wurden die Batch-Kulturen zunächst in 6-l-Rundkolben übertragen. Diese wurden mit ca. 5.5 l Kulturmedium gefüllt. Sobald sich ein Überdruck aufgebaut hatte, wurde eine kleine Öffnung geschaffen, durch die das entstehende Biogas entweichen konnte.

Wenn in der Endphase des exponentiellen Wachstums der größte Teil des Acetats abgebaut war und der pH-Wert von 5.8 auf ca. 7.0 gestiegen war, wurde der Inhalt des 6-l-Kolbens in einen der 12-l-Fermenter überführt. Bis zur Füllung des Fermenters auf ein Arbeitsvolumen von 11 l wurde die Fermentation als Fed-Batch-Kultur geführt und anschließend kontinuierlich fortgesetzt.

Das primäre Ziel dieser Fermentationen, nämlich die Bestimmung des Umsatzes in Abhängigkeit von der Verweilzeit (U- τ -Kurve), konnte aufgrund diverser technischer Schwierigkeiten nicht erreicht werden. Die wesentlichen Probleme ergaben sich durch die mangelhafte Förderung von Substrat und Säure, wofür zunächst Zahnrادpumpen ("micro pumps") eingesetzt wurden. Die häufigen Schwankungen der Volumenströme und des pH-Wertes machten nicht nur die Einstellung eines stationären Zustandes unmöglich, sondern führten auch sehr oft zum völligen Abtöten der Kulturen.

Um Abhilfe zu schaffen, wurde von der chemostatischen zu einer pH-statischen Betriebsweise (81) übergegangen. Dazu wurde eine als Substratpumpe dienende Schlauchpumpe mit konstantem Fördervolumen durch die pH-Regelanlage bei Bedarf eingeschaltet. Der pH-Wert des Substrates betrug 3.9, so daß sich bei einem Umsatz von 93 % im Fermenter ein pH-Wert von ca. 6.5 einstellte. Sobald der pH-Wert den eingestellten Sollwert überschritt, wurde neues Substrat zudosiert.

Abb. 23 zeigt für einen längeren Betriebsabschnitt einen Vergleich von Substratvolumenstrom, pH-Wert und Acetatkonzentration. In den 12-l-Fermentern konnte auf diese Weise über längere Zeit eine minimale Verweilzeit von ca. 60 h eingestellt werden. Die Schwankungen des Volumenstromes in Abb. 23 zeigen jedoch, daß das System bei dieser Betriebsweise sehr störempfindlich ist. Insbesondere die durch Eisensulfid bedingte Unzuverlässigkeit der pH-Messung kann zu nachhaltigen Störungen der Kultur führen.

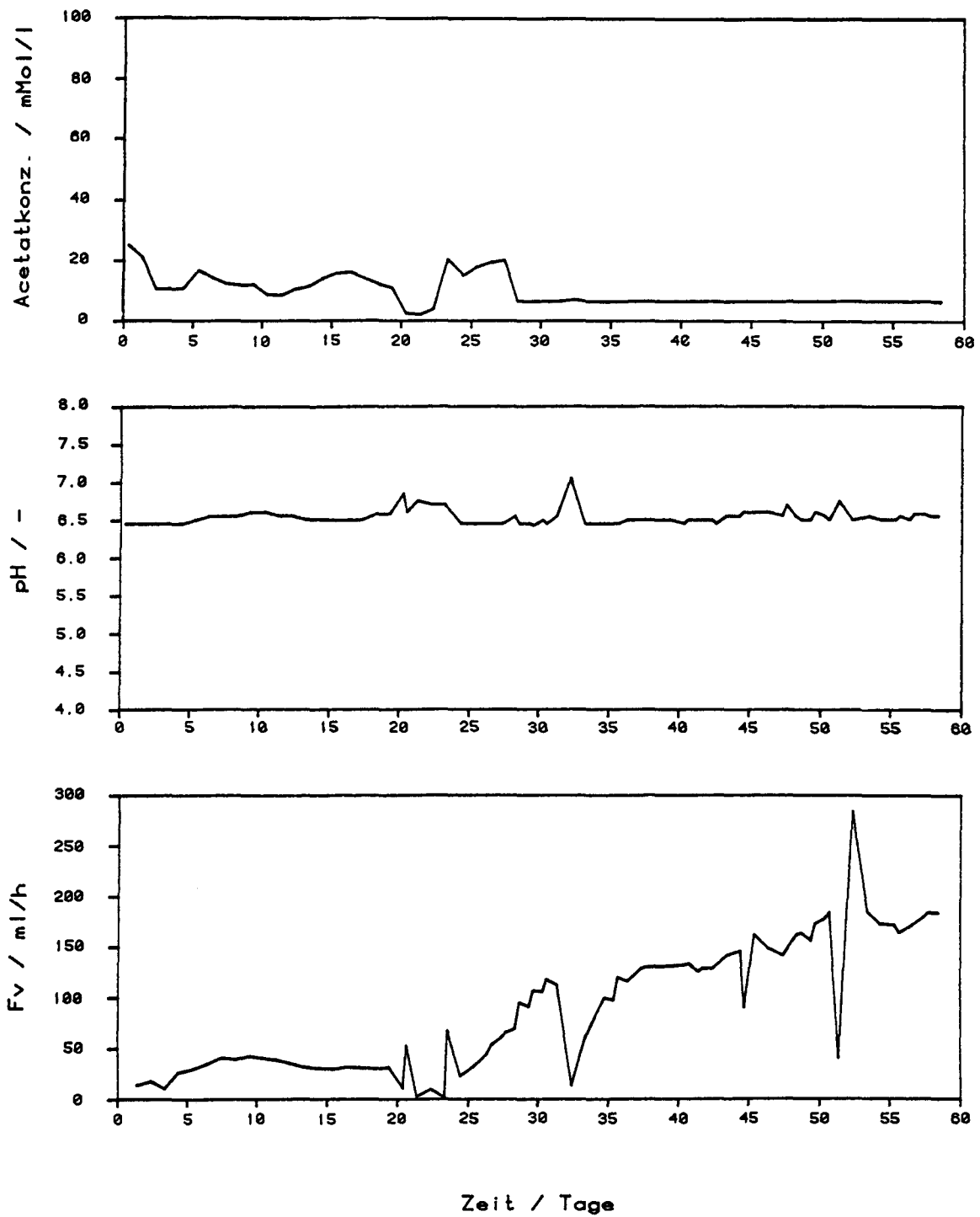


Abb. 23: pH-statischer Betrieb eines 12-l-Fermenters

Diese Erfahrungen stimmen mit denen von Märkl et al. (81), (82) überein, die ähnliche Versuche zur Methanisierung von Molke durchgeführt haben. Ziel der weiteren Arbeiten, die in erster Linie mit der 150-l-Anlage durchgeführt werden sollten, war daher die Entwicklung eines Regelkonzeptes, welches unter Berücksichtigung mehrerer Regelgrößen bei maximaler Zuverlässigkeit einen optimalen Acetatabbau erlauben sollte.

Die Verdopplungszeit der Kultur konnte bei diesen Versuchen auf minimal 42 h verkürzt werden (was anhand des - trotz großer Schwankungen - deutlich zunehmenden Volumenstromes erkennbar ist) und lag damit deutlich tiefer als der in den Batch-Kulturen erreichte Wert von 108 h. Dieses Ergebnis war eine erste Bestätigung des Vorhabens, möglichst wachstumsoptimierend zu arbeiten. Es sei an dieser Stelle betont, daß die Kulturen von vornherein nicht absolut steril geführt wurden. Es wurde lediglich keimarm gearbeitet, um möglichst definierte Bedingungen zu schaffen. Auf Keimfreiheit konnte unter dem Gesichtspunkt einer praxisbezogenen Arbeitsweise verzichtet werden, da sich unter dem hohen Selektionsdruck, wie er in einer anaeroben Lösung mit Acetat als einziger C-Quelle herrscht, nur solche Organismen durchsetzen sollten, die den Acetatabbau positiv beeinflussen.

6.4 SCALE-UP DER VERSUCHE IN DEN 150-L-MAßSTAB

Nach dem Aufbau der 150-l-Fermentationsanlage, der im wesentlichen durch die Herstellerfirma erfolgte, galt es, die Eignung sämtlicher Komponenten für den anaeroben Betrieb zu testen. Dazu wurde der Fermenter mit einer Kultur von *M. barkeri* aus den 12-l-Fermentern angeimpft und im kontinuierlichen Betrieb stufenweise die Verweilzeit verkürzt. Parallel dazu wurde die Software für die Meßwerterfassung und die Anlagensteuerung mit einem Prozeßrechner entwickelt, so daß die Betriebserfahrungen unmittelbar einfließen konnten. Dieses System wurde anschließend im Betrieb getestet und optimiert. Dazu wurden die Aufgaben der Verweilzeitverstellung und der Prozeßüberwachung dem Computer übertragen.

Die Ergebnisse dieser Arbeiten sind im folgenden dargestellt. Die Randbedingungen entsprachen in allen Versuchen den in Kapitel 6.1 aufgeführten Werten. Für die Rührung wurde lediglich ein Bodenrührer (mit 4 Rührblättern) benutzt, der bei einer Drehzahl von 150 Upm für eine ausreichende Durchmischung sorgte.

6.4.1 Handsteuerung der Anlage

Nach der Vorlage von 30 l Nährmedium und der Zugabe von ca. 30 l Inokulum wurde der Fermenter zunächst als Fed-Batch-Kultur betrieben. Bei Erreichen des angestrebten Füllstandes von 130 l wurde übergangslos auf den kontinuierlichen Betrieb umgestellt, wobei die Verweilzeit zunächst ca. 320 h betrug. Vor Erhöhung der Förderleistung der Substratpumpen wurde für jede eingestellte Verweilzeit ein stationärer Zustand abgewartet. Die aus diesem Anfahrvorgang resultierende U- τ -Kurve ist in Abb. 24 dargestellt. Die Messungen, die in Tabelle 9 zusammengefaßt sind, erstreckten sich über einen Zeitraum von ca. 9 Monaten.

Die Anlage wies zwar keine gravierenden Mängel auf, der Betrieb wurde jedoch durch einige kleinere Probleme gestört. Insbesondere seien hier noch einmal die bereits beschriebenen Schwierigkeiten bei der pH-Messung genannt. Durch den im Substrat eingestellten pH-Wert von 3.9 konnte weitestgehend auf eine pH-Regelung verzichtet werden. Deren Mängel erwiesen sich jedoch als besonders negativ, wenn in Betriebsabschnitten mit geringerem Umsatz zusätzlich Natronlauge dosiert werden mußte. Diese Störungen sind vermutlich eine der Ursachen für die relativ starken Schwankungen der Meßpunkte der U- τ -Kurve.

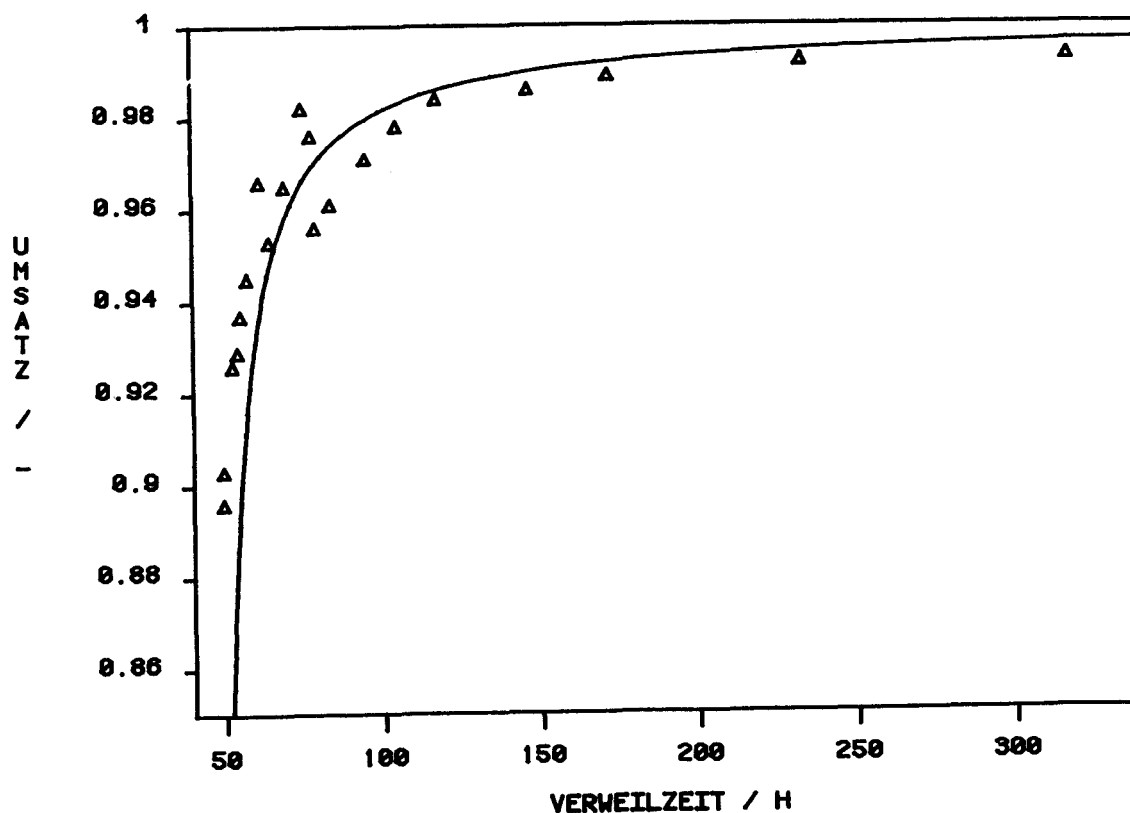


Abb. 24: U- τ -Kurve für 150-l-Fermenter

TABELLE 9

Meßwerte für U- -Kurve, 150-l-Fermenter

τ / h	U	S_0 / mol/l	X / g/l	Biogas / l/h
318.0	.993	.250	.321	3.9
234.0	.992	.265	.657	5.4
173.0	.989	.276	.570	7.3
147.0	.986	.281	.467	8.4
118.0	.984	.282	.584	10.4
105.2	.978	.279	.566	11.5
95.3	.971	.279	.511	12.3
84.1	.961	.283	.511	14.0
79.2	.956	.282	.511	15.0
78.2	.976	.316	.649	17.9
75.3	.982	.316	.682	18.6
69.7	.965	.317	.682	18.7
64.5	.953	.317	.604	21.1
61.6	.966	.303	.693	22.3
57.4	.945	.304	.653	22.1
55.0	.937	.307	.667	22.7
54.2	.929	.309	.647	23.4
52.5	.926	.309	.625	23.8
49.6	.896	.302	.560	32.7
49.6	.903	.302	.585	36.1

pH = 6.37 ± 0.12 $V_R = 130$ l

Es ist jedoch auch zu berücksichtigen, daß Änderungen der Bakterienpopulation nicht auszuschließen sind. Diese können einerseits durch die Störungen verursacht worden sein, können jedoch andererseits auch durch eine langsame Anpassung der Bakterien an die Prozeßbedingungen bewirkt worden sein. Bereits zu Beginn des kontinuierlichen Betriebes konnte durch eine Kontrolle der Kultur im Mikroskop festgestellt werden, daß außer *M. barkeri* mindestens ein weiteres Bakterium enthalten war. Außerdem war die Sulfidkonzentration im Nährmedium aufgrund des sehr niedrigen Redoxpotentials und der hohen Sulfidkonzentration im Fermenter bereits drastisch reduziert worden. Die Vermutung, daß die Kultur ein sulfat-reduzierendes Bakterium enthielt, konnte durch einen Vergleich der Sulfatanalysen⁵ für Substrat und Produkt belegt werden. Von dem im Nährmedium als Ammonium-Eisen-II-sulfat zugegebenen Sulfat waren 68 % zu Sulfid reduziert worden.

⁵ Diese Analysen wurden ebenfalls von Dr. Wolff und Mitarbeitern (Zentralabteilung für chemische Analyse der KFA) durchgeführt.

Die Reduzierung der Verdopplungszeit auf 35 h, entsprechend der kürzesten erreichten Verweilzeit von 50 h, bedeutet eine weitere Verbesserung gegenüber den Ergebnissen mit den 12-l-Fermentern und bestätigt somit ebenfalls den Erfolg der sogenannten wachstumsoptimierenden Arbeitsweise. Offenbar war die Abbauleistung der Kultur durch mindestens einen weiteren, nicht näher identifizierten Stamm verbessert worden. Aufgrund des Mikroskopbildes konnte man davon ausgehen, daß *M. barkeri* weiterhin das einzige methanogene Bakterium dieser Kultur war (83).

Anhand der in Tabelle 9 aufgeführten Meßwerte wurden einige kinetische Parameter bestimmt. Die Berechnungen erfolgten nach der Rosenbrock-Methode für nichtlineare Regressionen mit Hilfe eines FORTRAN-Programmes (40), (84). Die Überprüfung der statistischen Zuverlässigkeit der Daten erfolgte mit Hilfe einer Varianzanalyse (40). Es werden jeweils die Vertrauensbereiche für eine Konfidenz von 68.3 % angegeben. Im einzelnen wurden die folgenden Parameter bestimmt:

- Bestimmung von v_{\max} und k_S

Durch Einsetzen der Geschwindigkeitsgleichung 3.12 in Gleichung 3.16 ergibt sich unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die Biomassekonzentration im Substrat gleich Null ist, die Bestimmungsgleichung:

$$\text{Gl. 6.1} \quad \tau = \frac{U * (k_S + S_0 * (1-U))}{v_{\max} * (1-U) * X}$$

Damit erhält man die folgenden Parameter, für die die Ausgleichskurve in Abb. 24 dargestellt ist:

$$v_{\max} = 10.6 \pm 1.6 \text{ mmol / g*h}$$

$$k_S = 6.8 \pm 1.5 \text{ mmol / l}$$

Aus dem Wert der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit ergibt sich eine maximale Abbauleistung von

$$16.2 \text{ g}_{\text{CSB}} / (\text{g}_{\text{BTM}} * \text{d}).$$

Nimmt man näherungsweise an, daß aus der abgebauten Essigsäure nur Biogas gebildet wird, so ist die maximal erreichbare Biogasproduktion (unter Standardbedingungen)

$$11.4 \text{ l}_{\text{Biogas}} / (\text{g}_{\text{BTM}} * \text{d}).$$

- Bestimmung von μ_{\max} und k_S

Entsprechend ergibt sich durch Einsetzen der Gleichung 3.13:

$$\text{Gl. 6.2} \quad \tau = \frac{k_S + S_0 * (1-U)}{\mu_{\max} * S_0 * (1-U)}$$

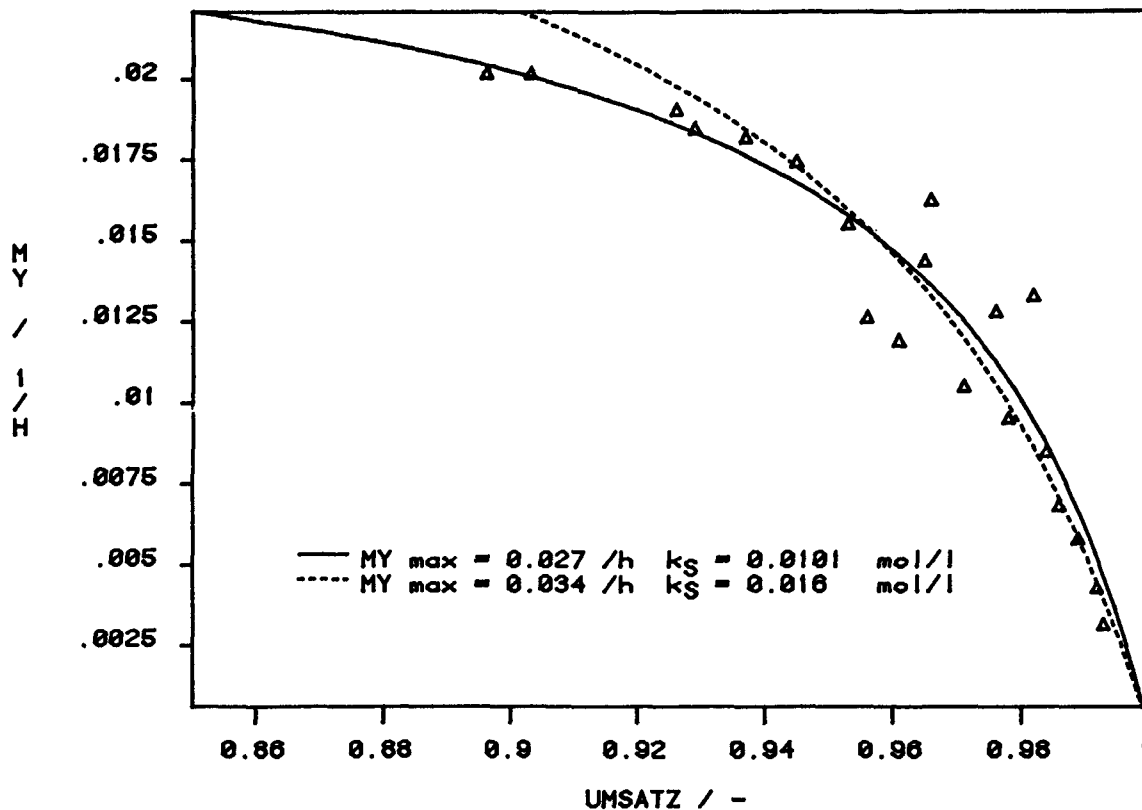


Abb. 25: Wachstumsrate in Abhängigkeit vom Umsatz

Durch die Regressionsrechnung erhält man:

$$\mu_{\max} = 0.034 \pm 0.006 \quad 1 / h$$

$$k_S = 16.0 \pm 3.0 \quad \text{mmol} / l$$

Da im stationären Zustand gilt:

$$\text{Gl. 6.3} \quad \mu = 1 / \tau ,$$

kann die Bestimmung dieser Parameter auch mit dem Kehrwert des Terms aus Gleichung 6.2 erfolgen:

$$\text{Gl. 6.4} \quad \mu = \frac{\mu_{\max} * S_0 * (1-U)}{k_S + S_0 * (1-U)}$$

Dabei ergeben sich andere Werte, da jetzt im Gegensatz zu Gleichung 6.2 die Werte bei kleinen Umsätzen eine stärkere Wichtung erfahren:

$$\mu_{\max} = 0.027 \pm 0.002 \quad 1 / h$$

$$k_S = 10.1 \pm 1.7 \quad \text{mmol} / l$$

Für beide Fälle sind in Abb. 25 die Ausgleichskurven und die Meßpunkte durch Auftragen der Wachstumsrate gegen den Umsatz dargestellt. Bei der Anwendung der Parameter ist der Auswaschpunkt die wichtigste Größe. Da dieser durch die Werte bei kleinen Umsätzen bestimmt wird, sind die letztgenannten Parameter vorzuziehen. Daraus resultiert formal eine minimale Verdopplungszeit von 37 h.

- Bestimmung des molaren Ertragskoeffizienten $Y_{X/S}$

Die Biomassekonzentration im stationären Zustand ergibt sich durch die stöchiometrische Beziehung, wobei der molare Ertragskoeffizient als stöchiometrischer Faktor auftritt:

$$\text{Gl. 6.5} \quad X = Y_{X/S} * S_0 * U$$

Durch einen Geradenausgleich für die gemessenen Biomassewerte erhält man:

$$Y_{X/S} = 2.1 \pm 0.3 \text{ g/mol.}$$

Auf eine graphische Darstellung wird hier verzichtet. Es sei jedoch bemerkt, daß die Biomassewerte sehr stark schwanken und die stöchiometrische Abhängigkeit vom Umsatz nicht erkennen lassen.

An dieser Stelle muß noch einmal betont werden, daß die oben aufgeführten Parameter lediglich einen formalen Charakter haben, da die Fermentation nicht mit einer Reinkultur durchgeführt wurde und außerdem die Modelle stark vereinfacht sind. Die Unterschiede der aufgeführten Parameter ergeben sich aus der Schwankungsbreite der Meßwerte und der Tatsache, daß die verschiedenen Modellgleichungen die Meßwerte verschieden stark wichten. Auch die Überprüfung der Werte anhand der Gleichung 3.14 führt zu unterschiedlichen Parametern, obwohl keine Hinweise auf eine Wachstumsentkopplung vorliegen.

Bei der Interpretation der Werte ist zu berücksichtigen, daß bei der Bestimmung der maximalen Wachstumsrate die Biomassewerte nicht in die Gleichung eingehen und dadurch eine Fehlerquelle ausgeschlossen ist. Daher ist den nach Gleichung 6.4 bestimmten Werten die größte Bedeutung beizumessen.

6.4.2 Verfahrensentwicklung zur Anlagensteuerung

Für die Steuerung der Anlage mit dem Prozeßrechner war zunächst eine Grundsoftware erforderlich, die weitestgehend unabhängig von speziellen Problemstellungen und möglichst flexibel sein sollte. Die entsprechenden Programme wurden bereits vor der eigentlichen Verfahrensentwicklung erstellt und sind in Kapitel 4.4.2 beschrieben. Sie bieten dem Benutzer neben der Wahl der Art und Anzahl der Meßkanäle im wesentlichen drei Einflußmöglichkeiten:

1. Auswahl und Anordnung der Programme in der Prozedur LOOPMAC. Nach der Umformung der Daten und der Trennung der Kanäle mit dem Programm UMDAMA bleibt es dem Benutzer überlassen, welche weiteren Auswertungen vorgenommen werden. Außer dem Programm DAREMA können auch benutzereigene Programme aufgerufen werden.
2. Steuerung der Anlage durch die Auswahl der Rückgabekanäle und die Berechnung der Rückgabedaten. Dazu wird das Programm RUDAMA nach dem Programm UMDAMA aufgerufen. Die Berechnungen können im Benutzerteil von RUDAMA und in zusätzlichen Programmen, die zwischen diesen beiden aufgerufen werden, erfolgen.
3. Nach der Bearbeitung der Daten in der Prozedur LOOPMAC stehen die abgespeicherten Ergebnisse zur freien Verfügung.

Im folgenden wird als eine Möglichkeit der Anwendung dieses Softwarepaketes das Konzept der Anlagensteuerung und der dazugehörigen Meßwerterfassung vorgestellt, welches anhand der Betriebserfahrungen entwickelt und im unmittelbaren Einsatz erprobt wurde. Der Leitgedanke war dabei eine Verweilzeitminimierung bei möglichst sicherem Betrieb der Anlage.

6.4.2.1 Meßwerterfassung

Die Meßwerterfassung beschränkte sich auf die wichtigsten Größen, bei denen auch aussagekräftige Änderungen zu erwarten waren. Auf die Meßwertreduktion im MACAMAC-Mikroprozessor (Programm MWE011) wurde verzichtet, da diese zu unregelmäßigen Zeitabständen für die Datenübertragung führen würde. Auf diese Weise wurde eine regelmäßige Datenrückgabe erreicht, denn diese erfolgte jeweils nach der Übertragung eines neuen Blockes. Ein Meßzyklus dauerte 20 Sekunden, die Übertragung erfolgte ca. alle 15 Minuten. Um eine zu große Ansammlung der Daten zu vermeiden, wurden diese unmittelbar nach der Übertragung in der Prozedur LOOPMAC so ausgewertet, daß für 15 Minuten nur jeweils ein Wert abgespeichert wurde. Im folgenden sind die erfaßten Größen und deren Auswertung beschrieben:

- pH-Wert
Der pH-Wert zeigt in der Regel keine plötzlichen Schwankungen, so daß für den Zeitraum von 20 Minuten ein Mittelwert aus allen Werten im zulässigen Wertebereich gebildet wird. Wenn dessen Standardabweichung größer als 10 % ist, werden zunächst Ausreißer eliminiert. Falls auch dadurch die Standardabweichung nicht kleiner als 10 % wird, wird nur der letzte, aktuelle Wert abgespeichert.
- Redoxpotential
Die Auswertung erfolgt analog zum pH-Wert.

- Volumenstrom von Biogas
Der Volumenstrom unterliegt regelmäßigen Schwankungen, deren Amplitude in ungünstigen Fällen bis zu 10 % vom Mittelwert betragen kann. Die Ursache sind leichte Schwankungen des Füllstandes, die durch einen diskontinuierlichen Produktstrom hervorgerufen werden. Bei jedem Öffnen des Produktventiles fällt der Fermenterinnendruck ein wenig ab, so daß auch der Volumenstrom abnimmt. Bei geschlossenem Ventil erfolgt dann wieder eine langsame Zunahme von Druck und Volumenstrom. Diese Schwankungen werden eliminiert, indem aus allen Werten eines Übertragungsblockes, die im zulässigen Wertebereich liegen, ein Mittelwert gebildet wird.
- Methan- und Kohlendioxidkonzentration im Biogas
Die Auswertung erfolgt ebenfalls analog zum pH-Wert.
- Masse des Substrates 2 (Nährsalze)
Ausreißer, die außerhalb des zulässigen Wertebereiches liegen, werden eliminiert.
- Acetatkonzentration
Die Acetatkonzentration konnte zwar nicht direkt aufgenommen werden, doch erfolgte die Auswertung der GC-Analysen mit dem Prozeßrechner. Die Ergebnisse wurden in eine Datei eingetragen und standen für das Programm RUDAMA zur Verfügung.

Diese Form der Meßwerterfassung bietet die folgenden Vorteile:

- * Man erhält die Meßwerte in äquidistanten Zeitabständen. Da für jede Meßzeit ein Meßwert pro Kanal vorliegt, können die Größen leicht auf Korrelationen untersucht werden (z.B. Abhängigkeit zwischen pH-Wert und Redoxpotential).
- * Die Menge der abgespeicherten Daten bleibt überschaubar.
- * Die Datenübertragung und damit die Rückgabe der Daten für die Prozeßsteuerung erfolgen in äquidistanten Zeitschritten.

Andererseits treten folgende Nachteile auf:

- * Schnelle oder kurzfristige Änderungen einer Meßgröße können so nicht erfaßt werden.
- * Die Datenreduktion bei der Auswertung im Prozeßrechner benötigt wesentlich mehr Rechenzeit als die Reduktion bei der Datenaufnahme im Mikroprozessor. Es sind zusätzliche Programme erforderlich (die jedoch vorhanden sind).

Diese Nachteile werden in Kauf genommen, da sie in diesem Fall für die Prozeßsteuerung unbedeutend sind. Es muß vielmehr als Vorteil betrachtet werden, wenn kurzfristige, vorübergehende Schwankungen, die für Fermentationen untypisch sind, nicht gleich zu einer Verstellung von Prozeßparametern führen. Außerdem kann die Übertragungszeit (hier 20 Minuten), die gleichzeitig auch die Totzeit für die Steuerung ist, leicht beeinflußt werden (durch Änderung der Dauer eines Meßzyklus oder der Länge des Übertragungsblockes) und somit den Erfordernissen des Pro-

zeßes angepaßt werden. Sofern unzulässige Werte von Meßgrößen den Prozeß gefährden können, führen diese darüberhinaus zur Auslösung eines Alarmes, der bereits wirksam wird, bevor die Meßwerte übertragen werden.

Bei der Auswertung der Meßgrößen in der Prozedur LOOPMAC werden ferner die folgenden abgeleiteten Daten berechnet:

- Veränderung des Biogasstromes
Durch die Werte eines Übertragungsblockes wird eine Ausgleichsgerade gelegt, wobei die Zeit in Stunden die Abzisse ist. Die Steigung dieser Geraden wird als Maß für die Änderung des Biogasstromes benutzt.
- Volumenstrom Substrat 2
Durch die Werte für die Masse des Substrates 2 wird in gleicher Weise eine Ausgleichsgerade gelegt. Der Absolutwert der Steigung dieser Geraden entspricht dem Volumenstrom.
- Volumenstrom Substrat gesamt
Der Volumenstrom für Substrat 1 wird anhand einer Eichgeraden für die Dosierpumpe und der letzten Einstellung dieser Pumpe berechnet. Die beiden Volumenströme werden zum Gesamtvolumenstrom addiert.
- Verweilzeit
Das Reaktionsvolumen wird aus einer Informationsdatei eingelesen und durch den Gesamtvolumenstrom dividiert.

6.4.2.2 Steuerung der Substratpumpe 1

Die wichtigsten Größen für die Beurteilung des Prozeßzustandes sind die Biogasproduktion, der pH-Wert und die Acetatkonzentration. Für die Steuerung des Prozesses werden diese drei Größen und die Änderung des Biogasstromes benutzt. Außerdem wird die seit der letzten Pumpenverstellung vergangene Zeit berücksichtigt.

Die Entscheidung für die vorzunehmende Verstellung der Substratpumpe 1 (Dosierpumpe für das Brüdenkondensat) erfolgt in einer hierarchischen Struktur verschiedener Bedingungen. Diese Bedingungen, die mit Hilfe des sogenannten Block-If der Programmiersprache FORTRAN77 (85) geprüft werden und jeweils mehrere logische Entscheidungen enthalten können, sind nach fallender Priorität geordnet. Sobald eine Bedingung erfüllt ist, wird die entsprechende Einstellung der Pumpe vorgenommen. Ist keine Bedingung erfüllt, bleibt die Pumpenleistung unverändert.

In Tabelle 10 sind die für den Essigsäureabbau relevanten Entscheidungen in kurzer Form wiedergegeben. Die erforderlichen Konstanten werden vom Betreiber der Anlage festgelegt und aus einer Informationsdatei eingelesen. Die Festlegung der Grenzwerte für die Pumpenverstellung legen auch die Strategie der Anlagensteuerung fest, indem die Prioritäten der verschiedenen Prozeßgrößen beeinflußt werden. Tabelle 11 zeigt zwei Beispiele für die Wahl der Parameter.

TABELLE 10

Verstellungen Substratpumpe 1

1. Notabschaltungen der Substratpumpen. Der Zeitabstand zur letzten Verstellung wird nicht berücksichtigt.	
- CA > CANOT2	---> Pumpe = WNOT2
- PH < PHNOT2	---> Pumpe = WNOT2
- FV < FVNOT2	---> Pumpe = WNOT2
2. Verstellungen nach Überschreitung der ersten Totzeit - DT > DTIME1	
2.1 Substratpumpen bei kritischen Werten einer Regelgröße (.:NOT1) um den VWERT1 zurückstellen.	
- CA > CANOT1	---> Pumpe = Pumpe-VWERT1
- PH < PHNOT1	---> Pumpe = Pumpe-VWERT1
- FV < FVNOT1	---> Pumpe = Pumpe-VWERT1
2.2 Substratpumpen um den VWERT2 zurückstellen.	
- PH <= PHMIN	und
DF <= DFMIN	---> Pumpe = Pumpe-VWERT2
- ARECYC > 0.	und
RECYCL < 0.6*ARECYCL	und
TA < TANOT1	---> Pumpe = Pumpe-VWERT2
- ARECYC = 0.	und
TA < TANOT1	---> Pumpe = Pumpe-VWERT2
2.3 Substratpumpen um den VWERT3 hochstellen.	
- CA <= CAMAX	und
PH >= PHMAX	und
DF >= DFMAX	und
TA < TAMIN	---> Pumpe = Pumpe+VWERT3
3. Verstellungen nach Überschreitung der zweiten Totzeit - DT > DTIME2	
3.1 Substratpumpen um den VWERT3 hochstellen, wenn stationärer Zustand vorliegt.	
- CA <= CAMAX	und
DF > DFMIN	und
DF < DFMAX	und
PH > PHMIN	und
TA < TAMIN	---> Pumpe = Pumpe+VWERT3
- CA <= CAMAX	und
PH > PHMIN	und
PH < PHMAX	und
DF > DFMIN	und
TA < TAMIN	---> Pumpe = Pumpe+VWERT3
4. Substratpumpen bleiben unverändert	

Erläuterungen der Variablen: siehe nächste Seite

Es werden die folgenden Variablen benutzt:

CA	Acetatkonzentration (mmol/l)
PH	pH-Wert
DF	Steigung des Biogasstromes (l / h*h)
FV	Mittelwert für Biogasstrom (l/h)
TA	Begrenzungen für die Verweilzeit (h)
..MIN	Grenzwert Minimum
..MAX	Grenzwert Maximum
..NOT1	Grenzwert für Pumpenrückstellung
..NOT2	Grenzwert für Pumpenabschaltung auf WNOT2
DT	Zeit seit der letzten Pumpenverstellung
DTIME1	minimaler Zeitabstand zwischen zwei Pumpenverstellungen (h)
DTIME2	dto., bei Konstanz der Steuergrößen (h)
WNOT2	Pumpenleistung für Notabschaltung (%)
VWERT1	Verstellwerte für Pumpe Substrat 1 (%)
VWERT2	
VWERT3	
ARECYC	Sollwert für Rückhalterate
RECYCL	aktueller Wert für Rückhalterate (siehe Kapitel 6.5.1)

TABELLE 11

Parameter für Pumpenverstellungen

Strategie 1: pH-Wert hat Priorität

	MIN	MAX	NOT1	NOT2
CA	*	*	*	*
PH	6.4	6.8	6.2	6.0
DF	-2.0	2.0	*	*
FV	*	*	5.0	2.0
TA	*	*	*	*

Strategie 2: Biogasproduktion hat Priorität

	MIN	MAX	NOT1	NOT2
CA	*	*	*	*
PH	6.2	6.8	6.0	5.8
DF	-0.5	0.5	*	*
FV	*	*	5.0	2.0
TA	*	*	*	*

* Dieser Grenzwert wurde nicht benutzt.

6.4.2.3 Regelung der Substratpumpe 2

Der Sollwert für die Förderleistung der Substratpumpe 2 ergibt sich aus der Förderleistung der Substratpumpe 1 durch Division durch 19, da er 5 % des Gesamtvolumenstromes betragen soll. Das Substrat 2 wird mit einer Schlauchpumpe gefördert, deren Förderleistung sich durch Alterung des Schlauches, durch Schlauchwechsel oder durch Änderung der Druckverhältnisse ändern kann. Daher ist es zweckmäßig, diesen Volumenstrom zu regeln.

Aus dem Volumenstrom von Substrat 2, der anhand der Massenabnahme der Vorlage (Meßstelle FIRC-14 in Abb. 11) für die letzte Einstellung der Pumpe berechnet wird (siehe Kapitel 6.4.2.1), und der dieser Einstellung entsprechenden Drehzahl des Pumpenkopfes, die anhand einer Eichgeraden berechnet wird, wird die Förderleistung pro Umdrehung des Pumpenkopfes berechnet. Mit diesem Wert wird anschließend die für den neuen Sollwert erforderliche Drehzahl des Pumpenkopfes ermittelt. Der Einstellwert ergibt sich aus der Drehzahl und der entsprechenden Eichgeraden.

Auf diese Weise wird die Einstellung der Schlauchpumpe ständig den aktuellen Verhältnissen angepaßt. Die Totzeit dieser Regelung entspricht der Zeit für einen Übertragungsblock. Sie könnte jedoch stark verkürzt werden, indem man mit einem Mikroprozessor ein eigenständiges System für die Regelung der Pumpe aufbaute.

6.4.3 Steuerung der Anlage mit dem Prozeßrechner

Der Test der im letzten Kapitel beschriebenen Software für die Steuerung der Substratpumpen wurde bei einem Anfahrvorgang des Fermenters durchgeführt. Zielsetzung dieses Versuches war es, die Verweilzeit in möglichst kurzer Zeit zu minimieren, ohne dabei in einen Wash-out zu geraten. Es galt zu zeigen, daß der Anlagenbetrieb durch den Prozeßrechner dem Handbetrieb überlegen ist und somit der Aufwand gerechtfertigt ist.

Gleichzeitig sollte versucht werden, die Verdopplungszeit der Kultur erneut zu verkürzen, um bei kürzerer Verweilzeit einen wirtschaftlicheren Betrieb einer technischen Anlage zu ermöglichen. Dazu wurde die Kultur einem "maximalen Streß" ausgesetzt, indem die Verweilzeit in kurzen Zeitabständen ($DTIME1 = 2 \text{ h}$) verkürzt wurde, sofern die Parameter es erlaubten. In Abb. 26 sind der Verlauf von Verweilzeit, Biogasproduktion, Acetatkonzentration und pH-Wert gegen die Versuchszeit aufgetragen. Während die Strategie zunächst so gewählt wurde, daß der pH-Wert die größere Priorität hatte (Strategie 1, siehe Tabelle 11), wurden die Grenzwerte bei kürzeren Verweilzeiten so gewählt, daß die Biogasproduktion, bzw. deren Änderung, Priorität hatte (Strategie 2). Außerdem wurde zusätzlich die pH-Regelung (konventioneller Regler) mit einem Sollwert von 6.2 pH-Einheiten eingeschaltet, um auch kleine Umsätze bei pH-Werten im optimalen Bereich zuzulassen.

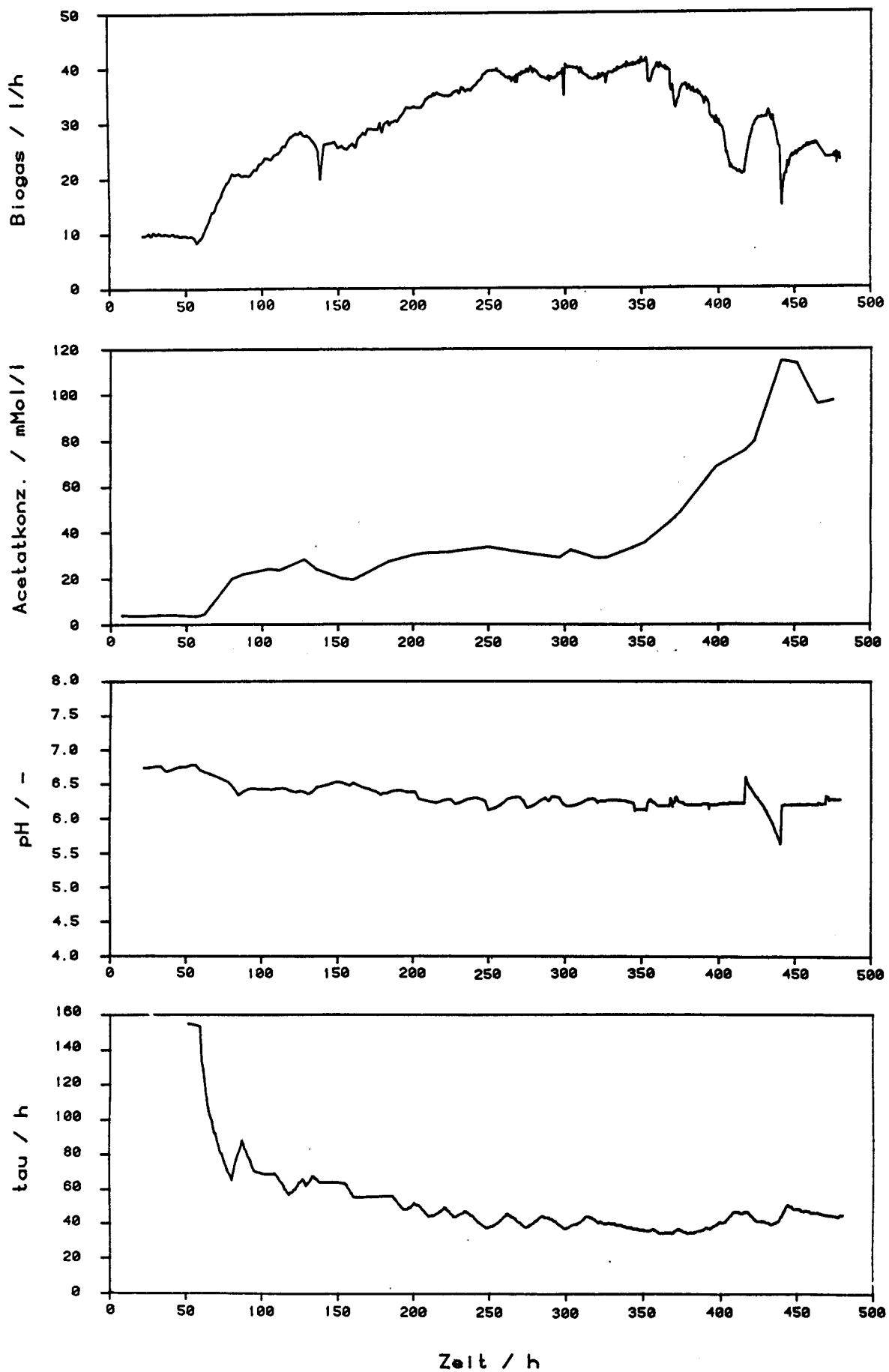


Abb. 26: Anfahren des Fermenters mit Prozeßrechnersteuerung

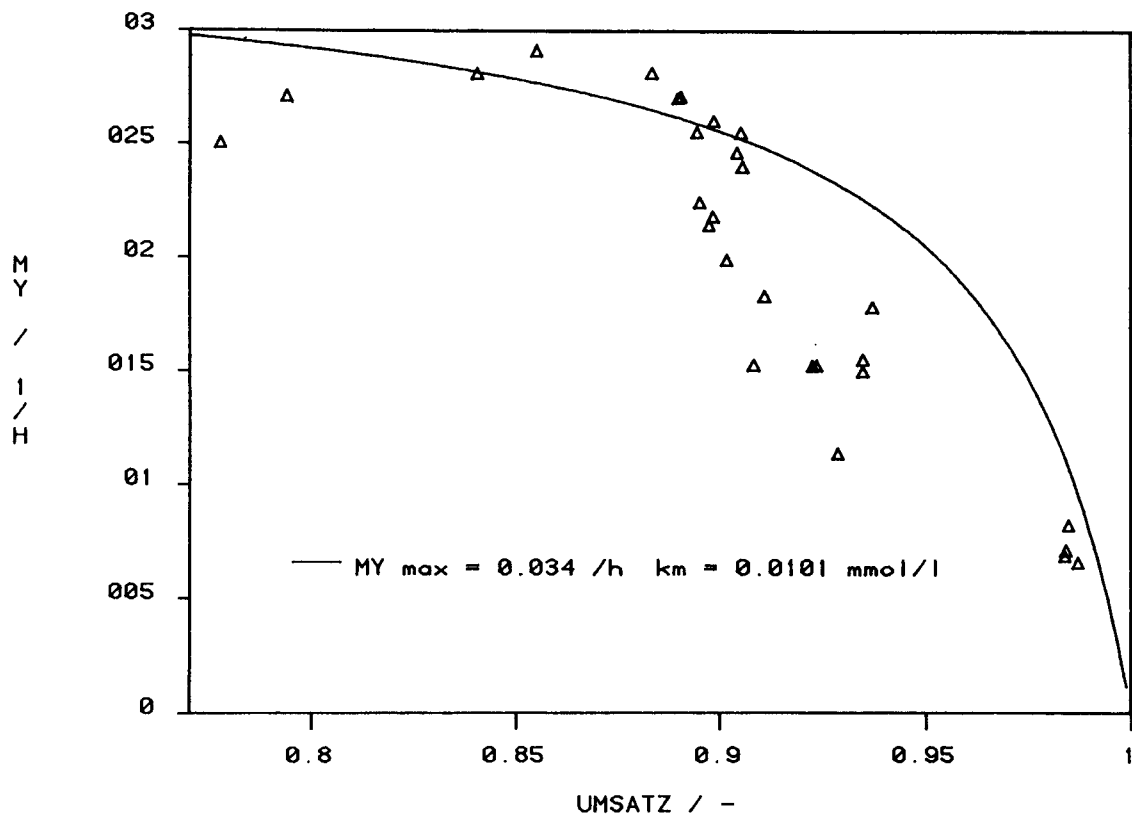


Abb. 27: Bestimmung der Wachstumsrate für den Anfahrvorgang

Hierbei zeigte es sich jedoch, daß durch zu starke Verweilzeitverkürzungen, wie sie im Bereich von 350 Versuchsstunden (siehe Abb. 26) erfolgten, die Essigsäurekonzentration ansteigen konnte, ohne daß die Verweilzeit rechtzeitig genug wieder verlängert wurde, da der pH-Wert und der Umsatz bei eingeschalteter pH-Regelung quasi entkoppelt sind. Daher wurde der Maximalwert für die Acetatkonzentration später in Strategie 3 auf 30 mmol/l begrenzt (siehe Tab. 14), so daß bei Umsätzen kleiner als 90 % keine Verweilzeitverkürzung mehr erfolgte. Bei einer Maximierung der Raum-Zeit-Ausbeute von Biogas ermöglicht diese Maßnahme gleichzeitig die Festlegung einer Mindestabbaurrate der Essigsäure. Da bei diesem Versuch nicht die Einstellung stationärer Zustände abgewartet wurde, ist eine Auswertung der Messungen entsprechend Kapitel 6.4.1 nicht möglich. Um dennoch einen Wert für die maximale Wachstumsrate zu erhalten, wurde diese für den Punkt der maximalen Biogasproduktivität berechnet. Für die Verweilzeit bei maximaler Produktivität des Fermenters gilt (86):

$$\text{Gl. 6.6} \quad 1/\tau = \mu_{\max} * \left(1 - \sqrt{\frac{k_S}{k_S + S_0}}\right)$$

Bei einer Verweilzeit von 35.5 h wurde eine maximale Biogasproduktivität von 41.6 l/h erreicht (siehe Tabelle 12). Mit

TABELLE 12

Meßwerte für rechnergesteuerten Anfahrvorgang

τ / h	U	S_0 / mol/l	X / g/l	Biogas / l/h
151.40	0.987	0.308	0.589	
144.90	0.984	0.308	0.509	
139.80	0.984	0.308	0.572	
121.17	0.985	0.308		10.240
66.63	0.935	0.308		21.150
87.78	0.929	0.308		21.280
65.54	0.924	0.308		25.080
65.44	0.908	0.308		27.950
65.50	0.923	0.308		25.780
64.36	0.935	0.308	0.572	26.530
56.04	0.937	0.308		26.890
54.55	0.911	0.308		25.150
50.21	0.902	0.308		32.470
45.76	0.899	0.308		33.810
46.61	0.898	0.308		35.0
44.54	0.895	0.308		36.350
36.96	0.890	0.308		39.180
38.39	0.899	0.308		39.280
39.14	0.906	0.308		38.530
39.12	0.895	0.308		40.180
41.61	0.906	0.308	0.657	37.790
40.56	0.905	0.308		38.960
36.88	0.891	0.308		40.750
35.52	0.884	0.308		41.570
34.30	0.856	0.308		39.0
35.55	0.841	0.308		35.670
36.87	0.794	0.308	0.619	33.890
39.88	0.778	0.308		31.750

pH = 6.3 ± 0.2 $V_R = 130 \text{ l}$

einer Sättigungskonstanten von 10.1 mmol/l (siehe Kapitel 6.4.1) erhält man folgende Werte:

$$\mu_{\max} = 0.034 \text{ /h} \quad \tau_{\min} = 29.4 \text{ h.}$$

Die entsprechende Ausgleichskurve ist zusammen mit den Meßpunkten in Abb. 27 dargestellt. Die Abbildung zeigt, daß für die meisten Meßpunkte kein stationärer Zustand vorlag.

Ein Auswaschpunkt von 29.4 h, der einer Verdopplungszeit von 20.4 h entspricht, würde gegenüber dem Handbetrieb noch einmal eine wesentliche Verkürzung der Verdopplungszeit bedeuten, kann aber nicht als gesichert gelten. Daher ist es zweckmäßiger, zum Vergleich der beiden Versuche die kürzesten erreichten Verweilzeiten zu betrachten. In Analogie zu Tabelle 9 zeigt Tabelle 12 die in Abb. 27 dargestellten Meß-

werte. Bei einem Umsatz von 90 % erhält man für den Versuch mit Handsteuerung eine Verweilzeit von ca. 50 h, während man für den zuletzt beschriebenen Versuch eine Verweilzeit von ca. 36 h erhält.

Diese Werte belegen eindeutig, daß die Leistung der Kultur durch den Einsatz des Prozeßrechners und die Anwendung der Strategie eines maximalen Stresses für die Bakterien noch wesentlich gesteigert werden konnte. Außerdem war es möglich, den Fermenter mit Hilfe des Rechners in der relativ kurzen Zeit von ca. 20 Tagen von einer Verweilzeit von 150 h auf eine Verweilzeit von 36 h "hochzufahren".

6.5 BIOMASSERÜCKHALTUNG DURCH EINEN ROTIERENDEN FILTER

6.5.1 Grundlagen und Gerätebeschreibung

Wenn durch die Minimierung der Verdopplungszeit einer Kultur und die Optimierung der Verfahrensbedingungen keine weitere Verweilzeitverkürzung bzw. Maximierung der Raum-Zeit-Ausbeute mehr möglich ist, bleibt noch eine weitere Möglichkeit: die Erhöhung der Konzentration aktiver Biomasse im Fermenter. Diese kann entweder durch Biomasserückhaltung oder durch Biomasserückführung erfolgen. Das heißt, daß ein Teil der Organismen durch einen geeigneten Verfahrensschritt (55) vom Produktstrom abgetrennt wird und in der Reaktionslösung verbleibt bzw. dorthin zurückgefördert wird. Dabei ist es besonders wichtig, die Kultur möglichst wenig zu schädigen.

Für die rechnerische Behandlung der Biomasserückhaltung wird eine sogenannte Rückhalterate eingeführt. Dazu geht man von zwei Produktströmen, dem Filtrat und der Suspension aus, wobei der Filtratstrom keine Biomasse enthält und die Biomassekonzentration in der Suspension gleich der im Fermenter ist. Die Rückhalterate A wird folgendermaßen definiert:

$$\text{Def. 6.1} \quad A = \frac{F_V(\text{Filtrat})}{F_V(\text{Substrat})}$$

Das heißt, daß bei einer Rückhalterate $A=0$ keine Biomasserückhaltung vorliegt, während bei $A=1$ totale Biomasserückhaltung vorliegt. Faßt man die beiden Produktströme zu einem Volumenstrom zusammen, so folgt für die Biomassekonzentration unmittelbar:

$$\text{Gl. 6.7} \quad X(\text{Produkt}) = (1-A) * X(\text{Fermenter}).$$

Wenn das Filtrat nicht völlig frei von Biomasse ist, muß die Rückhalterate mit Hilfe von Gl. 6.7 berechnet werden:

$$\text{Gl. 6.8} \quad A = 1 - X(\text{Produkt}) / X(\text{Fermenter})$$

$$\text{mit} \quad X(\text{Produkt}) = \frac{X(S) * F_V(S) + X(F) * F_V(F)}{F_V(\text{Substrat})}$$

(S: Suspension F: Filtrat)

In der Praxis sind Rückhalteraten von $A = 0.5 \dots 0.9$ anzustreben. Bei $A=1$ würden auch die lysierten Zellen im Fermenter verbleiben, so daß man eine ungünstige Altersverteilung der Kultur erhielte.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein sogenannter Rotorfilter für die Biomasserückhaltung eingesetzt (87). Ein Hohlzylinder aus Sintermetall ist an der Hohlwelle eines Drehstrommotors befestigt und wird zur Abtrennung der Biomasse mit einer Filtrationsmembran belegt. Das Filtrat wird an einer

Durchführung am Kopf des Filters entnommen. Bei einer Länge des Hohlzylinders von 500 mm und einem Durchmesser von 80 mm steht eine Filtrationsfläche von 0.126 m^2 zur Verfügung. Um eine vorzeitige Verstopfung des Filters zu vermeiden, rotiert die Welle mit dem Hohlzylinder und dem Filter mit einer Drehzahl von 300 ... 1000 Upm. Dabei wird eine Minimierung des Filterkuchens durch zwei Effekte erreicht:

- Erhöhung der Turbulenz an der Filteroberfläche,
- Abschleudern anhaftender Partikel durch die Zentrifugalkraft.

Da der Filter direkt in den Fermenter eingesetzt wird, ist keinerlei Schädigung der Mikroorganismen zu erwarten. Denn die Filtrationsbedingungen entsprechen stets den Fermentationsbedingungen und der Fermenterinhalt braucht nicht im Kreislauf gepumpt zu werden. Nachteilig kann es sich jedoch auswirken, daß damit auch die Bedingungen am Filter in engem Rahmen festgelegt sind. Insbesondere der Druck, der den Filtratstrom wesentlich beeinflusst, kann nicht in dem erwünschten Maße erhöht werden.

6.5.2 Funktionstest

Ein Test des Rotorfilters, der lediglich die prinzipielle Funktion der Anordnung zeigen sollte, wurde bereits vor der Kopplung der Anlage mit dem Prozeßrechner durchgeführt. Dieser Versuch wird im folgenden kurz beschrieben.

Der Rotor wurde bei einer Verweilzeit von 50 h und einer Acetatkonzentration von 30 ... 40 mmol/l in den Fermenter eingesetzt. Als Filter diente eine Nylon-66-Membran der Firma Pall mit einer Porenweite von $0.6 \dots 0.8 \mu\text{m}$. Die Drehzahl betrug 500 Upm und die Rückhalterate wurde mit Hilfe einer Filtratpumpe auf ca. 0.5 eingestellt.

Die Wirksamkeit der Anordnung wurde bei konstanter Verweilzeit anhand der Acetat- und der Biomassekonzentration beobachtet, deren zeitlicher Verlauf in Abb. 28 dargestellt ist. Unmittelbar nach dem Einsatz des Filters stieg die Biomassekonzentration, so daß mehr Essigsäure abgebaut wurde. Die Abnahme der Biomassekonzentration nach Durchschreitung eines Maximums war auf einen Rückgang der Rückhalterate durch die allmähliche Verstopfung des Filters zurückzuführen, da der Substratstrom konstant war.

Die Funktionstüchtigkeit des Rotorfilters für die Biomasserückhaltung im Fermenter konnte eindeutig bewiesen werden. Die Standzeit der verwendeten Filtrationsmembran betrug ca. 6 Tage. Die Wirksamkeit der Rotation des Filters wurde bei einem weiteren Versuch überzeugend demonstriert: nach dem Ausfall des Drehstrommotors zu Beginn des Versuches war die Membran innerhalb weniger Stunden verstopft.

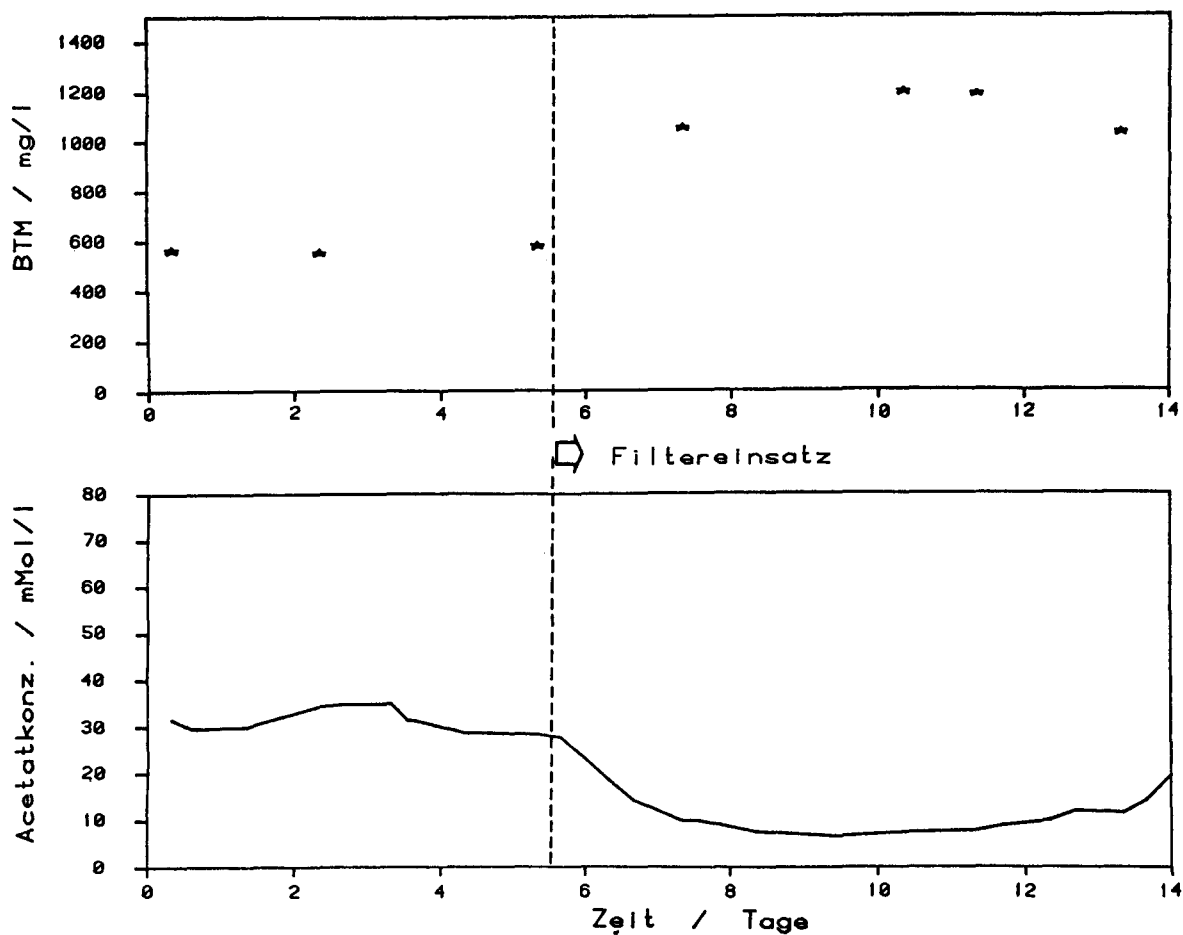


Abb. 28: Vorversuch mit dem Rotorfilter

6.5.3 Regelung des Filtratstromes

Aufgrund des erfolgreichen Vorversuches und der Erfolge bei der rechnergekoppelten Steuerung der Anlage (siehe Kapitel 6.4.3) sollte der Rotorbetrieb in das Konzept der Anlagensteuerung einbezogen werden. Dazu mußte die in Kapitel 6.4.2 beschriebene Software lediglich um zwei Punkte erweitert werden:

- Regelung des Volumenstromes der Filtratpumpe,
- Sicherheitsmaßnahmen bei Verstopfung des Filters.

Als Filtratpumpe wurde eine Schlauchpumpe vom gleichen Typ wie die Substratpumpe 2 benutzt, wodurch es möglich war, auch die Regelung zu übernehmen. Das Filtrat wurde dazu in einen PE-Ballon gepumpt, der auf einer 60-kg-Waage stand. Durch die Verwendung von Schläuchen mit verschiedenen Durchmessern ist der mit einer Schlauchpumpe erreichbare Volumenstrom sehr variabel. Der Sollwert des Filtratstromes wird im Programm aus dem aktuellen Gesamtsubstratstrom und dem Sollwert für die Rückhalterate berechnet. Durch das ständige Nachstellen der Filtratpumpe wird dem allmählichen Verstopfen des Filters entgegengewirkt, bis die Maximalleistung der Pumpe erreicht ist.

Dem sicheren Betrieb der Anlage dienen drei weitere Maßnahmen:

- Wenn die aktuelle Rückhalterate kleiner als das 0.3-fache des Sollwertes ist, wird die Filtratpumpe ausgeschaltet, um einen Trockenlauf zu vermeiden. Gleichzeitig wird der Sollwert für die Rückhalterate auf Null gesetzt, wodurch die Biomasserückhaltung abgeschaltet wird.
- Wenn der Sollwert für die Rückhalterate größer als Null ist, der aktuelle Wert jedoch kleiner als das 0.6-fache des Sollwertes und die Verweilzeit kleiner als ein vorgegebenes Minimum ist, wird die Substratzufuhr stufenweise verringert (siehe Tabelle 10, 2. Bedingung unter 3.). Dadurch wird einem Wash-out bei abnehmender Filtrationsleistung vorgebeugt.
- Wenn der Sollwert für die Rückhalterate gleich Null ist und die Verweilzeit kleiner als das vorgegebene Minimum, wird die Substratzufuhr ebenfalls stufenweise verringert (siehe Tabelle 10, 3. Bedingung unter 3.). Dadurch wird ein Wash-out nach dem Ausfall der Biomasserückhaltung verhindert.

6.5.4 Betrieb des Rotorfilters

Nach Abschluß der bisher beschriebenen Experimente stand noch ein aussagekräftiger Beweis der Funktionstüchtigkeit der gesamten Anlage aus, wobei der Rotorfilter zusammen mit der Prozeßrechnerkopplung einzusetzen war. Das besondere Interesse galt dabei der weiteren Verkürzung der Verweilzeit durch die Biomasserückhaltung. Es wurde eine Rückhalterate von wenigstens 50 % angestrebt, aus der bei konstantem Umsatz theoretisch eine Halbierung der Verweilzeit resultiert.

Um zunächst einen definierten Ausgangspunkt zu haben, wurde mit Hilfe des Prozeßrechners ohne Biomasserückhaltung ein stationärer Zustand bei einer Verweilzeit von 50 h eingestellt. Nachdem die Konstanz aller Meßgrößen gewährleistet war, wurde der Rotor in den Fermenter eingesetzt. Durch die kurzzeitige Öffnung des entsprechenden Flansches im Fermenterdeckel erfolgte keine wesentliche Störung der Fermentation. Die Prozeßgrößen bei Beginn der Filtration sind in Tabelle 13 zusammengefaßt.

Parallel zur Anreicherung der Biomasse durch die Filtration wurde die allmähliche Verkürzung der Verweilzeit durchgeführt. Die Steuerung der Anlage erfolgte wiederum durch den Prozeßrechner. Für die Einstellung der Verweilzeit wurde die in Tabelle 10 dargestellte Entscheidungshierarchie benutzt. Tabelle 14 enthält die entsprechenden Grenzwerte.

Der als Filterträger vorgesehene Sintermetallzylinder wurde zunächst mit verschiedenen Filtrationsmembranen belegt. Diese verstopften jedoch innerhalb weniger Stunden, so daß der Filtratstrom durch den Rechner abgeschaltet wurde. Folgende Filter wurden eingesetzt:

TABELLE 13

Prozeßgrößen bei Einsatz des Rotorfilters

Reaktionsvolumen	135	l
Temperatur	37	°C
Druck	1.19	bar
Drehzahl Bodenrührer	150	Upm
Drehzahl Rotorfilter	500	Upm
Rückhalterate	0.5	
Acetatkonzentration	18.0	mmol/l
pH-Wert	6.5	
Redoxpotential	-403	mV
Volumenstrom Biogas	29.5	l/h
Biotrockenmasse	513	mg/l

TABELLE 14

Parameter für Pumpenverstellungen (mit Filtration)

Strategie 3: Berücksichtigung von Acetatkonzentration, pH-Wert und Biogasproduktion

	MIN	MAX	NOT1	NOT2
CA	*	30	60	90
PH	6.1	6.3	5.8	5.6
DF	-0.5	0.5	*	*
FV	*	*	5.0	2.0
TA	18	*	36	*

* Dieser Grenzwert wurde nicht benutzt.

Pall	Nylon-66	0.4 ... 0.6 µm
Sartorius	Celluloseacetat, Typ SM-11003	1.2 µm
Millipore	Durapore, hydrophil, Typ HVLP	0.45 µm

Da keine weiteren Filtrationsmembranen in der erforderlichen Konfektionierung zur Verfügung standen, blieb lediglich die Möglichkeit, das Sintermetall ohne eine zusätzliche Membran einzusetzen, um überhaupt eine Biomasserückhaltung durchführen zu können. Da das Sintermetall eine Porenweite von 10 µm hatte und eine Einzelzelle von *M. barkeri* ca. 0.5 ... 1 µm Durchmesser hat, konnte eigentlich nicht mit einer ausrei-

chenden Rückhaltung der Biomasse gerechnet werden. Dennoch wurden so sehr gute Filtrationsraten erreicht. Dabei ist zu berücksichtigen, daß *M. barkeri* Zellaggregate bildet, deren Größe makroskopische Pellets erreichen kann. Die Ausspülung von Einzelzellen und die damit verbundene Anreicherung von Zellverbänden kann einen positiven Einfluß auf die Aktivität der Kultur haben (88). Diese Pelletbildung wird im sogenannten UASB-Prozeß (upflow anaerobic sludge blanket) zur Anreicherung der Biomasse ausgenutzt (89), wobei allerdings ein sehr großes Reaktorvolumen für die Sedimentation der Pellets erforderlich ist.

Der Verlauf dieser Fermentation ist in Abb. 29 dargestellt und wird im folgenden erläutert (die Nummerierung bezieht sich auf die in die Abbildung eingetragenen Ziffern):

pH-Wert: Um den pH-Wert nicht durch die Schwankungen der Elektroden zu verfälschen, wurden zusätzlich die Werte gezeichnet, die aufgrund des Einsatzes einer neu geeichten Elektrode als exakt zu betrachten sind (gestrichelte Kurve). Außerdem ist - ebenso wie bei der Acetatkonzentration - der Grenzwert für die Pumpensteuerung eingezeichnet.

Biogasstrom: Nach dem Einsatz des Rotorfilters liegen zunächst keine Werte vor, da der Abgasstrom durch das mehrmalige Öffnen des Fermenters nicht exakt gemessen werden konnte.

1 Einsatz des Rotorfilters in den Fermenter.

2 Einsatz des Sintermetallzylinders ohne Filtrationsmembran.

Die Verweilzeit im Bereich zwischen 1 und 2 lag oberhalb des kritischen Wertes von 36 h (ohne Biomasserückhaltung), so daß bereits eine beträchtliche Verweilzeitreduzierung erfolgte. Die Acetatkonzentration wurde dennoch geringer, da die Biomassekonzentration trotz unzureichender Filtration stieg.

3 Durch die verbesserte Filtrationsleistung wurde die Biomasse bei konstanter Verweilzeit deutlich angereichert und mehr Essigsäure abgebaut. Die anschließende Verweilzeitverkürzung erfolgte entsprechend den kurzen Verzögerungszeiten von $DTIME1=0.75$ h und $DTIME2=1$ h (Tabelle 10) so schnell, daß der Umsatz verringert wurde.

4 Der im Filtrat vorhandene Biomasseanteil nahm allmählich zu. Hierbei ist zu bedenken, daß das Sintermetall bei der Bakterienfiltration als Tiefenfilter wirkt. Die Zunahme der Biomasse im Filtrat ist somit als Filterdurchbruch zu betrachten, der sich hier aber in gut vertretbaren Grenzen hält.

5 Eine weitere Verweilzeitverkürzung wird bei $\tau = 19.3$ h durch den pH-Wert verhindert, der bei steigender Acetatkonzentration den unteren Grenzwert von 6.1 unterschreitet. Der pH-Wert im Substrat ist so eingestellt,

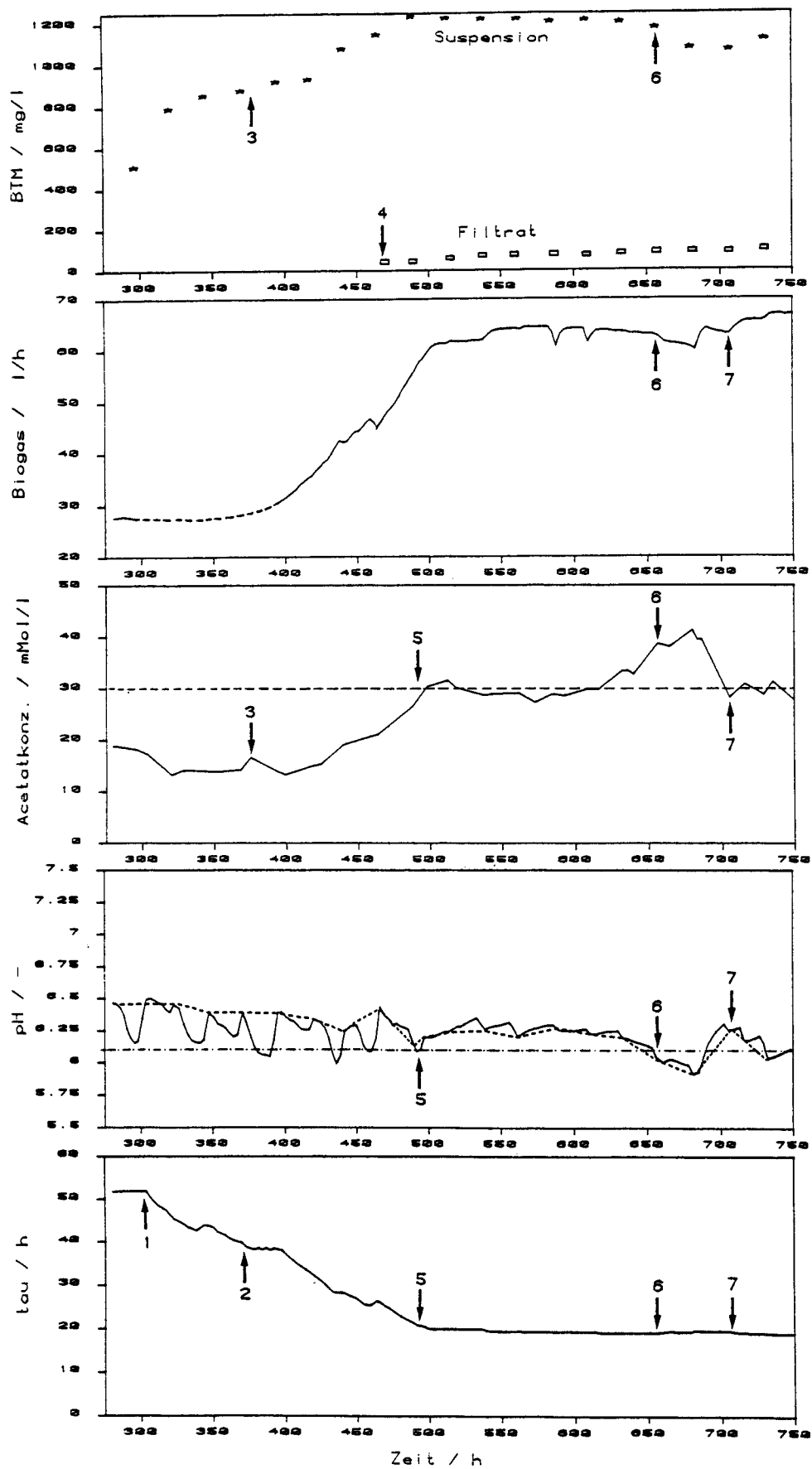


Abb. 29: Betrieb des Fermenters mit dem Rotorfilter
Ziffern 1 bis 7: siehe Text

daß sich bei einem Umsatz von 90 % ein pH-Wert von ca. 6.1 ergibt.

Im Bereich zwischen 5 und 6 erfolgt die Verweilzeitverkürzung nur noch sehr langsam, da sich der Prozeß bereits nahe am theoretischen Auswaschpunkt befindet (Grenzwert TAMIN in Tabelle 14).

- 6 Da die Strategie keine Verweilzeiterhöhung aufgrund der zu hohen Acetatkonzentration vorsieht, erfolgt diese erst bei der deutlichen Abnahme der Biogasproduktion (Tabelle 10: 1. Kriterium unter 3.). Der starke Rückgang des Umsatzes ist auf die allmähliche Verringerung der Biomasse zurückzuführen.

Es sei an dieser Stelle hervorgehoben, daß die Verlängerung der Verweilzeit von 19.2 h auf 19.7 h, die zur Verhinderung einer Biomasseausspülung erforderlich war, durch den Prozeßrechner ohne einen Eingriff des Betreibers erfolgte. Im Anschluß daran war es lediglich erforderlich, die Zeitkonstanten DTIME1 und DTIME2 zu verlängern (auf 3 h bzw. 4 h), damit der Prozeß vor einer erneuten Verweilzeitverlängerung gegebenenfalls einen stationären Zustand erreichen kann.

- 7 Nach der Stabilisierung der Bewertungsgrößen bei einer Verweilzeit von 19.8 h nimmt der Rechner erneut eine Verkürzung der Verweilzeit vor, um die Raum-Zeit-Ausbeute für Biogas zu maximieren. Auf diese Weise erfolgt eine Regelschwingung der Verweilzeit nahe des Auswaschpunktes bzw. um den Punkt maximaler Biogasproduktivität.

Die in diesem Versuch erzielten Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

- Ein erfolgreicher Einsatz des Rotorfilterprinzips ist durch die Anwendung eines porösen Festkörpers als Filtrationsmittel möglich. Die Zunahme der Biomasse im Filtrationsstrom läßt vermuten, daß es möglich sein sollte, mit kleineren Porenweiten von 0.2 ... 0.5 µm noch bessere Ergebnisse zu erzielen.
- Die schnelle Verkürzung der Verweilzeit und die Verhinderung einer Biomasseausspülung (Wash-out) demonstrieren die Eignung der in Kapitel 6.4.2.2 beschriebenen Strategie für die Steuerung der Anlage mit dem Prozeßrechner. Die seltenen Eingriffe des Anlagenbetreibers waren nur in Situationen erforderlich, die dem "Erfahrungsschatz der Software" bisher noch nicht zugänglich gemacht wurden.
- Die Erreichung einer minimalen Verweilzeit von ca. 19 h bei einer Rückhalterate von ca. 50 % und einem Umsatz von 90 % stimmt gut mit dem unteren Grenzwert von 36 h ohne Rückhaltung überein. Somit kann man davon ausgehen, daß sich die Aktivität der Kultur nicht wesentlich geändert hatte.

Kapitel VII

DISKUSSION

Das Ziel dieser Arbeit war es, einen Beitrag zur biologischen Reinigung des Brüdenkondensates, eines Abwassers der Zellstoffindustrie, zu leisten. Die erzielten Ergebnisse werden hier - soweit dies nicht schon in den einzelnen Kapiteln erfolgte - unter drei Gesichtspunkten diskutiert:

- verfahrenstechnischer Aufbau und Programmierung
- experimentelle Ergebnisse
- Fortsetzung der Arbeiten.

Um die bisherigen Erfahrungen für nachfolgende Arbeiten nutzbar zu machen, werden insbesondere auch die apparativen Probleme aufgezeigt.

7.1 VERFAHRENSTECHNISCHER AUFBAU UND PROGRAMMIERUNG

Die Planung der erforderlichen Fermenter erfolgte unter dem Gesichtspunkt, daß der Essigsäureabbau möglichst schnell in den kontinuierlichen Betrieb zu überführen war, und konzentrierte sich nach den ersten positiven Ergebnissen auf die Technikumsanlage (150-l-Fermenter).

Zunächst wurden drei Glasfermenter mit einem Totalvolumen von je 12 l aufgebaut (siehe Kapitel 4.2), in denen erste kontinuierliche Versuche durchgeführt wurden. Das Vorhaben, in diesen Apparaturen kinetische Parameter zu bestimmen, konnte aufgrund der Unzuverlässigkeit einiger Anlagenteile nicht realisiert werden. Die Betriebsstörungen waren im wesentlichen auf zwei Anlagenkomponenten zurückzuführen:

- Substratdosierung durch Zahnradpumpen (Typ micro-pump);
- Dosierung von Säure/Lauge zur pH-Regelung.

Da für die Substratpumpen kein geeigneter Ersatz zur Verfügung stand, wurden die Anlagen auf einen pH-statischen Betrieb umgestellt (siehe Kapitel 6.3). Durch diese Maßnahme war eine wesentliche Steigerung der Betriebssicherheit möglich, die jedoch durch die Zuverlässigkeit der pH-Messung (vergleiche Kapitel 5.1.1) begrenzt wurde. Diese Einschränkung verhinderte weiterhin die Bestimmung prozeßrelevanter Parameter.

Prinzipiell sind diese Anlagen dennoch für exakte Messungen durch die Einstellung stationärer Zustände geeignet, wenn folgende Maßnahmen berücksichtigt werden:

- Für die Substratdosierung im chemostatischen Betrieb sind Pumpen mit konstantem, definiertem Volumenstrom einzusetzen. Schlauchpumpen der Firma Watson-Marlow (Typ 501 U Mk II mit Pumpenkopf R) haben ihre Eignung für diese Aufgabe inzwischen unter Beweis gestellt. Die bei konstanter Drehzahl des Pumpenkopfes erreichbare Zuverlässigkeit des Volumenstromes kann durch den Einsatz einer Regelung noch gesteigert werden (vergleiche Kapitel 6.4.2.2).
- Die pH-Einstellung im Fermenter sollte durch die vorherige Einstellung des pH-Wertes im Substrat, die mit Hilfe der in Kapitel 3.4 gezeigten pH-Umsatzkurven erfolgen kann, ersetzt werden. Dadurch können pH-Schwankungen, die durch die Unzuverlässigkeit der pH-Elektroden erfolgen, völlig ausgeschlossen werden.
- Für die ausreichende Konstanz des Flüssigkeitsniveaus im Fermenter ist zu sorgen. Falls die konduktive Niveauregelung dafür nicht ausreicht, ist es angebracht, die Fermenter auf Waagen zu stellen.
- Der Prozeßzustand wird am zweckmäßigsten anhand von Acetatanalysen beurteilt.

Diese Maßnahmen wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht realisiert, da der Aufbau und Betrieb der 150-l-Anlage Priorität hatte.

Die Überlegungen zum Scale-up des Essigsäureabbaus führten zur Planung einer Fermentationsanlage mit 150 l Totalvolumen, deren Aufbau und Inbetriebnahme im Laufe dieser Arbeit erfolgten. Der mit dieser Anlage verbundene Arbeits- und Finanzaufwand hat sich durch eine hohe Betriebszuverlässigkeit ausgezahlt⁶. Der kontinuierliche Betrieb wurde ohne Unterbrechung über mehrere Monate aufrechterhalten. Bisher sind lediglich zwei Prozeßunterbrechungen zu verzeichnen, die jedoch auf Bedienungsfehler zurückzuführen sind. Beim Betrieb der Anlage haben sich die folgenden Konzepte als besonders vorteilhaft erwiesen:

- Niveauregelung im Fermenter mit Hilfe einer Waage;
- Aufteilung des Nährmediums in zwei Volumenströme (Substrat und Nährsalze);
- Ausstattung der Anlage mit einer umfangreichen Meß- und Regelungstechnik;
- Kopplung der Anlage mit einem Mikroprozessor und einem Prozeßrechner;

⁶ Den Mitarbeitern der Firma Bioengineering AG, Wald, Schweiz, sei an dieser Stelle für die fruchtbare Kooperation und die besonders sorgfältige Fertigung der Anlage gedankt.

- Einsatz konventioneller Regler, die durch Sollwerteinstellung (SPC-Betrieb) vom Rechner beeinflusst werden können, jedoch auch ohne Rechner voll funktionsfähig sind;
- Anwendung der Biomasserückhaltung durch einen rotierenden Filter.

Der Umfang dieser Anlage bedingt zwangsläufig das Auftreten von Problemen mit einzelnen Anlagenkomponenten. Diese konnten bisher jedoch größtenteils in Zusammenarbeit mit den Herstellern gelöst werden, so daß hier nur noch die folgenden Schwierigkeiten zu nennen sind:

- Das schon mehrfach erwähnte Problem der pH-Wertmessung besteht unverändert und könnte allenfalls durch eine modifizierte Meßkette gelöst werden. An einer entsprechenden Elektrode wird bei der Firma Ingold gearbeitet⁷. Bisher besteht nur die Möglichkeit, die Elektrodendrift durch den täglichen Wechsel der Elektroden (mit Hilfe einer Wechselarmatur der Firma Ingold) und deren sorgfältige Reinigung zu minimieren. Die von anderen Anwendern (90) bevorzugte Technik, die Elektroden lediglich anhand von externen Messungen nachzueichen, führte im Rahmen dieser Arbeit nur zu unbefriedigenden Ergebnissen. Besonders nachteilig erwies sich dabei die zunehmende Trägheit bei pH-Änderungen.
- Der Dosierstrang für Säure erwies sich als wenig korrosionsbeständig gegen Salzsäure. Eine HCl-Konzentration von 0.1 mol/l darf nicht überschritten werden, wodurch bei entsprechenden Regelproblemen große Volumenströme für Salzsäure erforderlich sind. Im Falle des Essigsäureabbaus kann auf die Zugabe von Salzsäure verzichtet werden (siehe unten).
- Die Steuerung der Substratpumpe 1 (Alldos-Dosierpumpe) durch den Rechner war zunächst nicht vorgesehen und erforderte den nachträglichen Einbau eines Stellgliedes. Die Addition der Fehler mehrerer in Reihe wirkender Übertragungsglieder führen zu Abweichungen zwischen Soll- und Istwert der Pumpeneinstellung, die nur durch häufiges manuelles Nacheichen eliminiert werden können. Die Verbesserung dieser Steuerung ist unbedingt wünschenswert. Auf eine Regelung des Volumenstromes kann verzichtet werden, da die eingesetzte Kolben-Membranpumpe eine sehr gute Förderkonstanz aufweist.
- Zwei Meßmethoden, die in dieser Arbeit nur zu Testzwecken eingesetzt wurden, seien kurz erwähnt:
 - * Messung der Sulfidkonzentration im Fermenter (Meßstelle 08 in Tabelle 2). Mit Hilfe der rS-Meßkette (siehe Kapitel 5.1.3) wurde ein sehr gutes elektrisches Signal für die Sulfidkonzentration erhalten, das sowohl auf Änderungen des gelösten Schwefelwasserstoffes als auch auf

⁷ persönliche Mitteilung von Herrn Dr. Bühler, Ingold AG, Zürich

pH-Änderungen ansprach. Bisher existiert jedoch noch keine zufriedenstellende Methode zur Umrechnung des Signals in Sulfidkonzentrationen, so daß die Ergebnisse nicht quantitativ verwertet werden können. An einer entsprechenden Eichung wird seitens der Herstellerfirma gearbeitet.

- * Messung des Partialdruckes von Kohlendioxid in der Lösung (Meßstelle 10 in Tabelle 2). Auch für diese Messung wurde von der Firma Ingold eine entsprechende Meßkette zur Verfügung gestellt, die im Gegensatz zu bisherigen Ausführungen auch sterilisierbar ist. Der Einsatz der Elektrode in der anaeroben Fermentation bei relativ hohen Kohlendioxid-Partialdrücken von ca. 0.5 bar ergab keine zufriedenstellenden Meßsignale. Es muß jedoch eingeräumt werden, daß diese Meßkette für den Einsatz bei aeroben Fermentationen konzipiert ist und eventuell auch durch Sulfid beeinflusst wird, da es sich prinzipiell um eine pH-Messung handelt.

Abschließend zu den Ausführungen über pH-Werte wird im folgenden noch ein Konzept für die pH-Einstellung im Fermenter vorgestellt, das nach den bisherigen Erfahrungen als optimal zu betrachten ist:

- Der pH-Wert der Essigsäurelösung (Substrat 1) wird anhand der pH-Umsatzkurven so eingestellt, daß bei dem maximal angestrebten Umsatz keine Zugabe von Salzsäure im Fermenter erforderlich ist.
- Sofern bei abnehmendem Umsatz Lauge zugegeben werden muß, kann dieses mit der Nährsalzlösung (Substrat 2) erfolgen, da hier die Vorlage relativ häufig gewechselt wird. Wenn die dabei auftretenden zeitlichen Verzögerungen zu groß sind, ist es erforderlich, in die Substratlösung eine Mischzelle einzubauen, in der der pH-Wert anhand eines vorausberechneten Sollwertes geregelt wird. Dieser Sollwert kann auch durch den Prozeßrechner berechnet und an den Regler übertragen werden.
- Durch die Toleranz der Kultur gegenüber pH-Schwankungen im Bereich von ca. 6.1 ... 6.7 kann jedoch in der Regel in einem weiten Umsatzbereich auf die Nachregelung des pH-Wertes verzichtet werden, sofern vorher der geeignete pH-Wert (ca. 3.9 bei 300 mmol/l Acetat) im Substrat eingestellt wurde. Bei der Reinigung des Brüdenkondensates im technischen Maßstab muß diese pH-Einstellung in einem der Fermentation vorgeschalteten Prozeßschritt erfolgen.

Die Entwicklung der Software für die Prozeßrechnerkopplung wurde soweit abgeschlossen, daß der Rechner die Einstellung der Verweilzeit nach den vom Benutzer vorgegebenen Grenzwerten übernimmt (vergleiche Kapitel 6.4.2). Außerdem wird der Volumenstrom von Substrat 2 (siehe Kapitel 6.4.2.3) und vom Filtrat (siehe Kapitel 6.5.3) mit Hilfe des Rechners geregelt. Die Programme sind gegen die zu erwartenden Störfälle gesichert. Wesentliche Störungen an der Anlage können erkannt werden und führen - soweit dies möglich ist - zu Zurückschaltungen in sichere Betriebszustände.

Die Programmierung wurde möglichst flexibel gestaltet, so daß sie neuen Problemstellungen angepaßt werden kann. Nachteilig kann sich eventuell der zeitliche Aufwand, der für einen vollständigen Programmzyklus erforderlich ist, auswirken. Im Bedarfsfall wären die Programme unter diesem Gesichtspunkt zu optimieren.

7.2 EXPERIMENTELLE ERGEBNISSE

Wie bereits aus der ausführlichen Darstellung der Versuchsergebnisse (siehe Kapitel 6) hervorgeht, wurden diese hauptsächlich im 150-l-Fermenter erzielt - eine Wichtung, die dem apparativen Aufwand Rechnung trägt. Die in den Vorversuchen erzielten Ergebnisse seien noch einmal kurz zusammengefaßt:

- Mit Hilfe bekannter Arbeitsmethoden wurde der Methanbildner *M. barkeri* in Batch-Kulturen gezogen. Dabei diente Essigsäure als einzige C-Quelle.
- Versuche zum pH-Optimum ergaben eine hohe Toleranz gegenüber pH-Wertänderungen im pH-Bereich von 6 bis 7.
- Die Übertragung der Fermentationen in die kontinuierliche Betriebsweise erfolgte in Glasgefäßen mit einem Reaktionsvolumen von 11 l.
- Beim pH-statischen Betrieb dieser Fermenter wurde eine unzureichende Stabilität des Prozesses festgestellt.

Diese Versuche führten zu dem Schluß, daß die anaerobe Fermentation ein für den Essigsäureabbau taugliches Verfahren ist. Dessen technische Einsetzbarkeit wurde durch den Scale-up des Fermentationsvolumens um einen Faktor größer als 10 unter Beweis gestellt.

Die Fortsetzung der Arbeiten mit einem Reaktionsvolumen von 130 l (bzw. 135 l mit Rotorfilter) konzentrierten sich auf zwei Ziele, die eng miteinander gekoppelt sind:

- Maximierung der Aktivität der Bakterienkultur durch die Anwendung eines möglichst hohen Selektionsdruckes ("maximaler Streß" auf die Organismen);
- Minimierung der Verweilzeit durch eine optimale Betriebsführung der Anlage und durch den zusätzlichen Einsatz der Biomasserückhaltung.

Ein Vergleich der in den verschiedenen Versuchen erreichten Abbauraten und Verweilzeiten ist in Tabelle 15 dargestellt. Eine Wachstumsrate von 0.028 /h ist für die hier vorgestellte Arbeit der höchste erreichte Wert. Mit Hilfe der kinetischen Gleichungen wurde eine maximale Wachstumsrate von 0.034 /h bestimmt (siehe Kapitel 6.4.3).

Die Biomasserückhaltung mit Hilfe eines rotierenden Filters wurde bisher nur mit Rückhalteraten von maximal 50 % einge-

TABELLE 15

Vergleich der Versuchsergebnisse

Versuch	Kapitel	μ / 1/h	t_d /h	τ / h	Abbaurrate *	
					mmol Ac /l/d	g CSB /l/d
Batch	6.2.1	0.0064	108.3	156.3	-	-
12-1-F.	6.3	0.017	41.6	60.0	108	8.1
150-1-F. Hand	6.4.1	0.020	34.7	50.0	130	9.7
Rechner	6.4.3	0.028	25.0	36.0	180	13.4
... mit Rotor	6.5.4	0.028	25.0	19.0	341	25.5

* Substratkonzentration: 300 mmol/l; Umsatz: 90 %

Versuch	Kapitel	Raumbelastung g CSB/ l/d	Schlammbelastung g CSB/ g BTM/d	spez. Abbaurrate	
				mmol Ac g BTM/d	g CSB/ g BTM/d
150-1-F. Hand	6.4.1	9.22	15.75	222	14.2
Rechner	6.4.3	12.80	22.38	315	20.1
... mit Rotor	6.5.4	24.25	20.21	284	18.2

In diese Tabelle wurden lediglich die in den Versuchen erreichten Werte aufgenommen, da diese garantiert werden können, während die anhand kinetischer Gleichungen bestimmten Werte nur einen formalen Charakter haben.

setzt. Es bestehen jedoch keinerlei Bedenken, daß diese noch wesentlich erhöht werden kann, wodurch eine weitere Verkürzung der Verweilzeit möglich wird. Dabei ist eine Rückhalterate von ca. 90 % als Maximum anzusehen. Es muß nämlich gewährleistet sein, daß ein Teil der Bakterien ausgespült wird, um eine ungünstige Altersverteilung der Kultur zu vermeiden. Ausgehend von einer Verweilzeit von 36 h ohne Biomasserückhaltung zeigt Abb. 30 die Abhängigkeit der minimalen Verweilzeit von der Rückhalterate A. Aus den entsprechenden Berechnungen ergibt sich eine minimale Verweilzeit von 3.6 h bei einer Rückhalterate von 90 %.

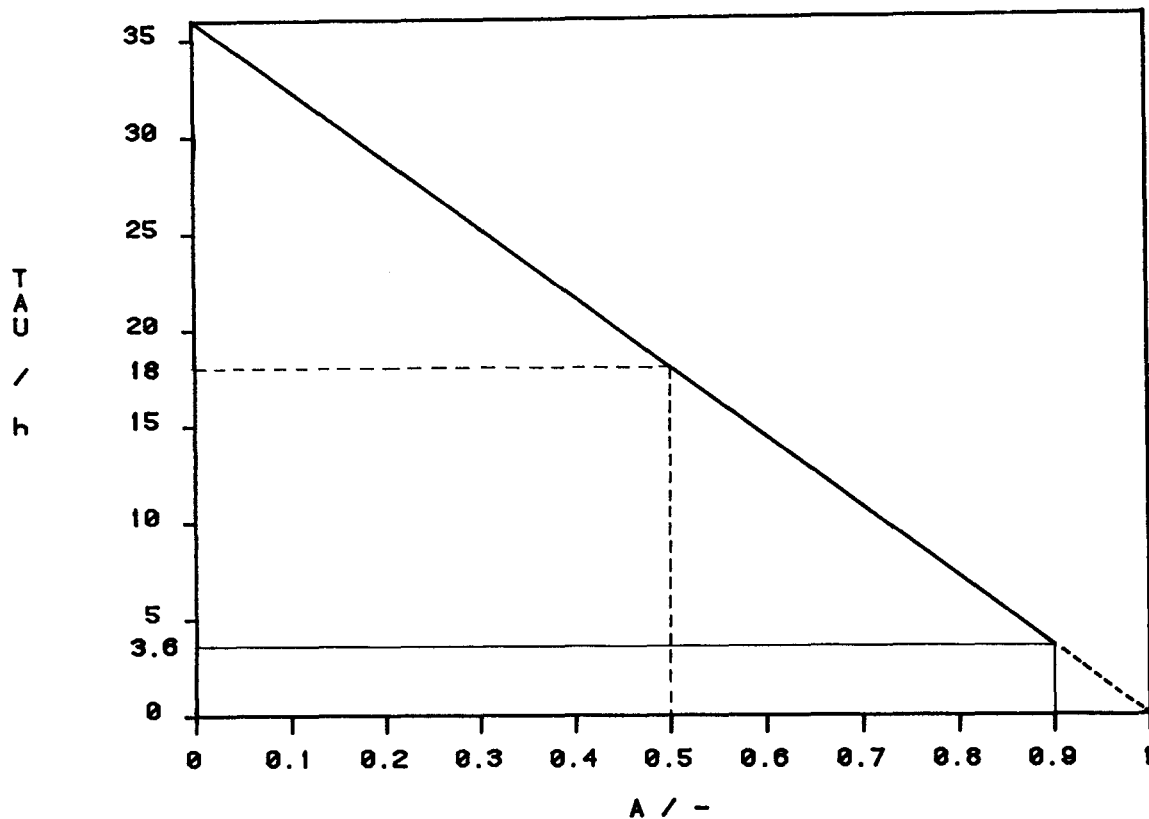


Abb. 30: Abhängigkeit der Verweilzeit von der Rückhalterate

Die Versuche zeigen das große reaktionstechnische Potential der anaeroben Fermentation. Bei optimaler Betriebsführung ist ein derartiger Prozeß auch für die Anwendung im großtechnischen Maßstab geeignet. Erfolgreiche Anwendungen der Biomasserückhaltung bei anaeroben Fermentationen wurden bereits durch eine Trägerfixierung methanogener Bakterien erzielt. Aivasidis (91) erreichte bei der Behandlung von Brüdenkondensat in einem Festbettreaktor Verweilzeiten von 5 ... 6 h. Heijnen (92) erreichte bei der Behandlung von Hefeextrakt aus der Ethanolproduktion in einem Wirbelbettreaktor Verweilzeiten von 1 ... 4 h.

7.3 FORTSETZUNG DER ARBEITEN

Bei der Beantwortung der Frage nach einer Fortsetzung der Arbeiten unter anwendungstechnischen Gesichtspunkten muß in erster Linie die Wirtschaftlichkeit des Prozesses berücksichtigt werden. Darüberhinaus ist es erforderlich, die bisherigen Ergebnisse auf ein praktisches Abwasser einer Zellstofffabrik zu übertragen, da die hier vorgestellten Untersuchungen sämtlich mit einem Modellabwasser vorgenommen wurden.

Die letzte Frage lässt sich vorab beantworten, da mit anderen Mischkulturen bereits Brüdenkondensat abgebaut wurde (20), (91). Sofern die hier eingesetzte Kultur nicht für das Brüdenkondensat geeignet ist, kann aus jenen Kulturen eine zusätzliche Animpfung erfolgen. Dabei dürfte das von Brune (20) isolierte Furfural-abbauende Bakterium von besonderem Interesse sein, da das Brüdenkondensat auch geringe Mengen von Furfural enthält. Außerdem kann die Strategie eines maximalen Selektionsdruckes mit Hilfe der Anlagensteuerung durch den Prozeßrechner anhand weiterer Kulturen geprüft werden.

Für die Beurteilung der Wirtschaftlichkeit können bisher nur qualitative Anhaltspunkte gegeben werden, deren quantitative Tragweite anhand weiterer Versuche ermittelt werden muß. Die folgenden Gesichtspunkte seien hier hervorgehoben:

- Der Einsatz eines Verfahrens zur Biomasserückhaltung ist nur dann sinnvoll, wenn die dafür erforderlichen finanziellen Mittel geringer sind als diejenigen Mittel, die für die Installation eines größeren Reaktionsvolumens aufzuwenden sind. Ein größerer Reaktor wäre erforderlich, um ohne Rückhaltung den gleichen CSB-Abbau zu erzielen.
- Die Kosten für die Biomasserückhaltung hängen sehr stark von dem angewandten Verfahren ab, wobei den laufenden Betriebskosten die größte Bedeutung zukommt. Unter diesem Gesichtspunkt kann die Verwendung von Filtrationsmembranen in Zusammenhang mit dem Rotorfilter aufgrund der bisherigen Versuche als unpraktikabel betrachtet werden. Der Einsatz von porösen, selbsttragenden Filtrationsmitteln, wie z.B. Sintermetall oder Keramik, führt zu wesentlich besseren Ergebnissen, da die Standzeiten erheblich höher sind. Außerdem ist es möglich, Verstopfungen des Filters durch Rückspülung zu beseitigen. In diesem Zusammenhang wird auch der Einsatz eines externen Kreislaufes für den Rotorfilter geplant. Durch eine geeignete Einstellung der Filtrationsbedingungen und durch erhöhte Konvektion in einem Ringspalt zwischen der Filteroberfläche und einem Stator soll dabei die Filtrationsrate verbessert werden. Voraussetzung ist, daß die Organismen in dem externen Kreislauf nicht geschädigt werden.
- In die laufenden Betriebskosten gehen darüberhinaus die Kosten für Chemikalien ein, die als Nährstoffe zugesetzt werden müssen. Es ist davon auszugehen, daß das in dieser Arbeit benutzte Nährmedium für die technische Anwendung zu kostenintensiv ist. Andererseits ist es jedoch möglich, die Zugabe der Nährstoffe zu minimieren. So wurde z.B. die Cysteinkonzentration bereits wesentlich herabgesetzt, ohne daß ein negativer Einfluß auf die Kultur festgestellt wurde (siehe Anhang D.3). Außerdem ist es erforderlich diesen Prozeß bei der technischen Anwendung in die Verfahrensschritte einer Zellstoffabrik so einzubetten, daß die vorhandenen Materieströme optimal genutzt werden.
- Bei einer Kostenanalyse ist auf jeden Fall das im Prozeß gewonnene Methan zu berücksichtigen, das unter Energiegewinn verbrannt werden kann.

Aufgrund der bisherigen Ergebnisse ist es angebracht, die Arbeiten mit dem Ziel einer großtechnischen Anwendung fortzusetzen. Dabei sind folgende Prioritäten maßgebend:

1. Der Prozeß muß vom synthetischen Medium auf das Brüdenkondensat übertragen werden. Diese Übertragung kann zunächst im 150-l-Fermenter erfolgen.
2. Anschließend ist eine weitere Scale-up-Stufe erforderlich, wobei ein Reaktor mit mindestens 1000 l, besser jedoch 2000 l Gesamtvolumen vorzusehen ist. In diesem Maßstab sollte neben der reaktionstechnischen Optimierung auch eine wirtschaftliche Optimierung erfolgen.
3. Nach dem Scale-up des Prozesses steht die 150-l-Anlage für die Untersuchung spezieller Fragestellungen zur Verfügung. Neben der genauen Messung des Einflusses einzelner Parameter auf den Prozeß, wie z.B. Temperatur, pH-Wert und Sulfidkonzentration, ist die Anlage sehr gut geeignet, die Dynamik des Prozesses bei wechselnden Randbedingungen oder Abwasserqualitäten zu untersuchen.

Kapitel VIII

ZUSAMMENFASSUNG

Gegenstand dieser Arbeit ist eine anaerobe Fermentation zur Abwasserbehandlung unter reaktionstechnischen und anwendungsorientierten Gesichtspunkten. Die Untersuchungen wurden an einem Modellabwasser, das dem Brüdenkondensat der Zellstoffindustrie angelehnt war, durchgeführt. Die als alleinige C-Quelle enthaltene Essigsäure, die die Hauptbelastung des Brüdenkondensates ausmacht, wurde durch methanogene Bakterien der Spezies *Methanosarcina barkeri* zu Biogas, einem Gemisch aus Methan und Kohlendioxid, abgebaut. Die dafür eingesetzte Bakterienkultur, die unter unsterilen Bedingungen geführt wurde, enthielt außerdem sogenannte Sulfatreduzierer, die für die Einstellung einer günstigen Sulfidkonzentration sorgten.

Im einzelnen wurden die folgenden Ergebnisse erzielt:

- Reaktionstechnische Betrachtungen führten vorab zu dem Ergebnis, daß der kontinuierliche Rührkessel für diesen Prozeß der optimale Reaktor ist. Ausschlaggebend sind die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit und des pH-Wertes vom Umsatz.
- Für die Berechnung des pH-Wertes in verdünnten wässrigen Lösungen wurden Fortran-Programme entwickelt, die auf verschiedene Probleme des pH-Wertverlaufes anwendbar sind.
- Der Prozeß der anaeroben Fermentation wurde vom Labormaßstab in den Technikumsmaßstab übertragen. In der ersten Stufe erfolgte die Überführung von Batch-Kulturen in kontinuierliche Kulturen mit einem Reaktionsvolumen von 11 l.
- In einer zweiten Scale-up-Stufe erfolgte eine Vergrößerung des Reaktionsvolumens auf 130 ... 135 l. Hierzu wurde eine Fermentationsanlage mit 150 l Totalvolumen geplant und nach der Konstruktion und Aufstellung durch einen Fermenterhersteller in Betrieb genommen. Auf die meß- und regelungstechnische Ausrüstung und auf die Kopplung der Anlage mit einem Prozeßrechner wurde besonderer Wert gelegt.
- Die Meßwerterfassung und Steuerung der Anlage durch den Prozeßrechner erforderten die Entwicklung eines umfangreichen Programmpaketes, das im wesentlichen für einen optimalen Betrieb der Anlage eingesetzt wurde. Anhand einer Entscheidungsstrategie übernahm die Software die Einstellung der Substratpumpe entsprechend dem jeweiligen Prozeßzustand.

- Durch die rechnergesteuerte Maximierung des Selektionsdruckes zugunsten maximaler Biogasproduktivität konnte die Verdopplungszeit der Population auf ca. 25 h verkürzt werden. Dabei wurde der Rechner so eingesetzt, daß beim Betrieb der Anlage automatisch ein Arbeitspunkt nahe der maximalen Biogasproduktivität eingestellt wurde.
- Eine weitere Verkürzung der Verweilzeit war durch den Einsatz eines rotierenden Filters für die Biomasserückhaltung im Fermenter möglich. Bei einer Rückhalterate von ca. 50 % und einem Umsatz von 90 % war es möglich, die Verweilzeit auf ca. 19 h zu senken.
Unter Berücksichtigung einer Substratkonzentration von 300 mmol/l Acetat erhält man damit eine Abbaurate von 341 mmol/l/d Acetat bzw. 25.5 g/l/d CSB (Raumbelastung 28.3 g/l/d CSB).

Zusammenfassend zeigte der Betrieb der 150-l-Anlage, daß die anaerobe Fermentation sehr gut für die Behandlung spezieller industrieller Abwässer geeignet ist. Da durch die Erhöhung der Rückhalterate eine weitere Verkürzung der Verweilzeit möglich wird, sind von diesem Prozeß im großtechnischen Einsatz sowohl wirtschaftliche als auch umwelttechnische Vorteile zu erwarten.

A N H A N G

Anhang A

BERECHNUNG DES PH-WERTES IN VERDÜNNTEN LÖSUNGEN

A.1 ALLGEMEINE VORAUSSETZUNGEN UND DEFINITIONEN

Im folgenden wird eine Methode zur Berechnung von pH-Werten dargestellt, die für den gesamten pH-Bereich anwendbar ist. Die Berechnungen sind jedoch lediglich für den Grenzfall der ideal verdünnten Lösungen exakt, da sämtliche Aktivitätskoeffizienten gleich 1 gesetzt werden.

Für die Berechnungen gelten folgende Grundlagen und Definitionen:

- pH-Wert

Def. 1: $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$

- Dissoziationskonstante des Wassers

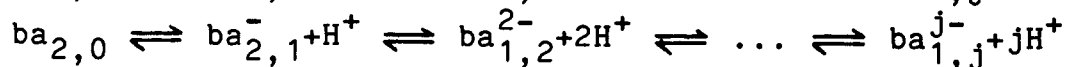
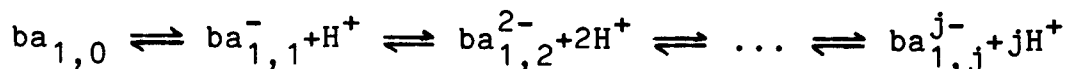
Def. 2: $K_W = [\text{H}^+] * [\text{OH}^-]$

$$\text{p}K_W = -\log K_W$$

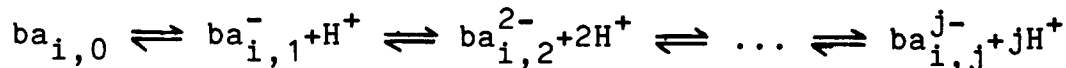
Wertebereich: $13 \leq \text{p}K_W \leq 15$

- Säurekonstanten

allgemeines Schema für Dissoziationsgleichgewichte:



.



$i = 1 \dots \text{kom}$; kom: Anzahl der Komponenten der Lösung
 $j = 1 \dots \text{n}p_k_i$; $\text{n}p_k_i$: Anzahl der Dissoziationskonstanten für die Komponente i

Def. 3: $K_S(i,j) = [\text{ba}_{i,j}^{j-}] * [\text{H}^+] / [\text{ba}_{i,j-1}^{(j-1)-}]$

$$\text{p}K_S(i,j) = -\log K_S(i,j)$$

Wertebereich: $0 \leq \text{p}K_S(i,j) \leq \text{p}K_W$

- Konzentration sehr starker Säuren und Laugen

Def. 4: Eine sehr starke Säure (vollständig dissoziiert) liegt vor, wenn gilt:

$$pK_S < 0$$

Maß für die Konzentration einer sehr starken Säure:

$$\sum_n n * [An^{n-}]$$

An^{n-} : Anion einer sehr starken Säure (z.B. Cl^- , F^-)

Def. 5: Eine sehr starke Lauge (vollständig dissoziiert) liegt vor, wenn gilt:

$$pK_S > pK_W$$

Maß für die Konzentration einer sehr starken Lauge:

$$\sum_m m * [Kat^{m+}]$$

Kat^{m+} : Kation einer sehr starken Lauge (z.B. Na^+ , K^+)

$$Def. 6: [ANKA] = \sum_n n * [An^{n-}] - \sum_m m * [Kat^{m+}]$$

$[ANKA] > 0$: Betrag von $[ANKA]$ ist die Konzentration sehr starker Säuren.
 $[ANKA] < 0$: Betrag von $[ANKA]$ ist die Konzentration sehr starker Laugen.

- Totalkonzentration der Komponente i

$$Def. 7: c_i^t = \sum_{j=0}^{npk_i} [ba_{i,j}^{j-}]$$

- Basebruch

$$Def. 8: x_{ba}(i,j) = [ba_{i,j}^{j-}] / c_i^t$$

A.2 BERECHNUNG DES BASEBRUCHES

Mit Hilfe der Definitionsgleichungen für die Säurekonstanten ist es möglich, eine Bestimmungsgleichung für den Basebruch zu erhalten, die lediglich den pH-Wert und die pK-Werte der beteiligten Dissoziationsgleichgewichte enthält. Da die Berechnung der Basebrüche ein Teilproblem bei der pH-Wertberechnung ist, soll sie vorab dargestellt werden.

Durch Umformung der Definition 8 und Einsetzen von Definition 7 erhält man:

$$\text{Gl. 1} \quad x_{ba}(i,j) = 1 / \sum_{l=0}^{n_{pk_i}} \frac{[ba_{i,l}^{1-}]}{[ba_{i,j}^{j-}]}$$

Die Bestimmung des Quotienten im Nenner der Gleichung 1 sei hier ohne Beweis gegeben. Man erhält sie durch geeignetes Umformen und ineinander Einsetzen der Definitionsgleichungen 3.

$$\text{Gl. 2} \quad \frac{[ba_{i,l}^{1-}]}{[ba_{i,j}^{j-}]} = \begin{cases} = 10^{((1-j)*pH + \sum_{n=l+1}^j pK_S(i,n))} & \text{für } l < j \\ = 1 & \text{für } l = j \\ = 10^{((1-j)*pH - \sum_{n=j+1}^l pK_S(i,n))} & \text{für } l > j \end{cases}$$

Gleichung 2 wird in Gleichung 1 eingesetzt. Der Basebruch wird entsprechend der daraus resultierenden Gleichung mit Hilfe der Subroutine RELKON berechnet.

A.3 BERECHNUNG DES PH-WERTES

Unter der Voraussetzung, daß die wäßrige Lösung keine Komponenten enthält, die ein heterogenes Gleichgewicht bilden, erhält man für die Berechnung des pH-Wertes folgendes Gleichungssystem:

$\sum_{i=1}^{kom} n_{pk_i}$	Gleichungen für Dissoziationsgleichgewichte (Def. 3)
i	Gleichungen für Totalkonzentrationen (Def. 7)
1	Gleichung für pK_W (Def. 2)
1	Gleichung für die Protonenbilanz (Gl. 3)

Die Bilanzierung aller in der Lösung enthaltenen Protonen führt zu folgender Gleichung:

$$\text{Gl. 3} \quad [\text{H}^+] = \sum_{i=1}^{\text{kom}} \left(\sum_{j=1}^{\text{npk}_i} j * [\text{ba}_{i,j}^-] \right) + [\text{OH}^-] + [\text{ANKA}]$$

Dieses Gleichungssystem enthält die folgenden Variablen:

$i + \sum_{i=1}^{\text{kom}} \text{npk}_i$ Variablen für die Konzentrationen aller Basen und korrespondierenden Säuren

1 Variable für H^+

1 Variable für OH^-

Damit ist die Anzahl der Variablen gleich der Anzahl der Bestimmungsgleichungen, so daß für das Gleichungssystem mindestens eine nichttriviale Lösung existiert. (Es handelt sich um algebraische Gleichungen.)

In Gleichung 3 wird unter Berücksichtigung der Definition 8 der bereits abgeleitete Ausdruck (Gl. 1 und Gl. 2) für den Basebruch eingesetzt. Außerdem wird die Hydroxylionenkonzentration mit Hilfe der Definition 2 eliminiert, so daß man folgende Gleichung erhält:

$$\text{Gl. 4} \quad [\text{H}^+] = \sum_{i=1}^{\text{kom}} \left(c_i^t * \sum_{j=1}^{\text{npk}_i} j * x_{\text{ba}}(i,j) \right) + K_W / [\text{H}^+]$$

Zur Vereinfachung wird F1 definiert:

$$\text{Def. 9} \quad F1(\text{pH}) = \sum_{i=1}^{\text{kom}} \left(c_i^t * \sum_{j=1}^{\text{npk}_i} j * x_{\text{ba}}(i,j) \right)$$

Die Berechnung von $F1(\text{pH})$ erfolgt durch die Subroutine F1PHV1 bzw. F1PHV2.

Durch Einsetzen von $F1(\text{pH})$ und Umformung der Gleichung 4 erhält man:

$$\text{Gl. 5} \quad 0 = F1(\text{pH}) - [\text{H}^+] + K_W / [\text{H}^+] + [\text{ANKA}]$$

oder unter Benutzung der Definitionen 1 und 2:

$$\text{Gl. 6} \quad 0 = F1(\text{pH}) - 10^{-\text{pH}} + 10^{(\text{pH} - \text{pk}_W)} + [\text{ANKA}]$$

Damit ist das oben genannte Gleichungssystem auf eine Bestimmungsgleichung reduziert, deren Lösung durch eine iterative Nullstellenbestimmung erfolgt. Definiert man die Funktion F2 und setzt diese in Gleichung 6 ein, so erhält man Gleichung 7 als Zielfunktion der Nullstellenbestimmung.

$$\text{Def. 10} \quad F2(\text{pH}) = 10^{-\text{pH}} - 10^{(\text{pH} - \text{pk}_W)} - [\text{ANKA}]$$

$$\text{Gl. 7} \quad f(\text{pH}) = F1(\text{pH}) - F2(\text{pH})$$

Eine Untersuchung der Funktionen F1 und F2 ergibt, daß F1(pH) monoton steigend ist, während F2(pH) monoton fällt. Daraus folgt, daß f(pH) monoton steigt und dementsprechend genau eine Nullstelle hat.

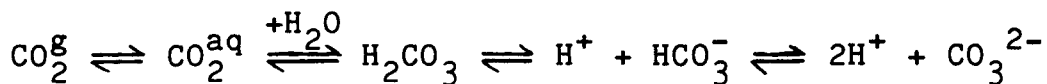
Fazit: Es existiert genau eine nichttriviale Lösung des Gleichungssystem für die pH-Wertberechnung. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit der Erfahrung, daß sich in jeder Lösung genau ein pH-Wert einstellt.

Die Bestimmung der Nullstelle erfolgt mit Hilfe der Subroutine ZREAL1 aus der IMSL (44) nach der Methode von Muller (45), (46). Das Programm FPH steht als EXTERNAL FUNCTION für die Berechnung der Funktion f(pH) zur Verfügung.

Außerdem kann mit Hilfe der Gleichung 6 bei bekanntem pH-Wert die Konzentration der sehr starken Säuren bzw. Laugen [ANKA] berechnet werden.

A.4 BERÜCKSICHTIGUNG VON KOHLENDIOXID

Wenn eine wäßrige Lösung Kohlendioxid enthält, das mit der Gasphase im Gleichgewicht steht, so sind bei der pH-Wertberechnung die folgenden Reaktionen zu berücksichtigen:



Da die Konzentration der Kohlensäure aufgrund ihrer geringen Stabilität sehr gering ist, faßt man die Löslichkeitskonstante sowie die Gleichgewichtskonstanten für ihre Bildung und für die erste Dissoziationsstufe zu der effektiven Dissoziationskonstanten zusammen (48):

$$\text{Def. 11} \quad \text{pK}_S(\text{CO}_2, 1_{\text{eff}}) = [\text{H}^+] * [\text{HCO}_3^-] / [\text{CO}_2^g]$$

Für die Berechnung der Totalkonzentration des Kohlendioxids kann die als Kohlensäure vorhandene Menge vernachlässigt werden:

$$\text{Def. 12} \quad [\text{CO}_2^t] = [\text{CO}_2^{aq}] + [\text{HCO}_3^-] + [\text{CO}_3^{2-}]$$

Die Berechnung der Totalkonzentration einer gesättigten Kohlendioxidlösung erfolgt unter der Annahme, daß die Sättigungskonzentration des physikalisch gelösten Kohlendioxids unabhängig vom pH-Wert ist. Aus den Definitionen 8 und 12 erhält man dann folgende Bestimmungsgleichung:

$$\text{Gl. 8} \quad [\text{CO}_2^t](\text{sat}) = \frac{[\text{CO}_2^{aq}]}{x_{\text{ba}}(\text{CO}_2^{aq})}$$

Für die Berechnung der aktuellen Totalkonzentration müssen zwei verschiedene Fälle unterschieden werden:

1. Die Gesamtmenge des Kohlendioxids ist kleiner als die Sättigungskonzentration. Es geht nahezu alles Kohlendioxid in Lösung, wenn der Gasraum klein ist gegenüber dem Flüssigkeitsvolumen.
2. Die Gesamtmenge des Kohlendioxids übersteigt die Sättigungskonzentration. Das überschüssige Kohlendioxid entweicht der Lösung.

Als zweite Bestimmungsgleichung für die pH-Wertberechnung erhält man:

$$\text{Gl. 9} \quad [\text{CO}_2^t] = \begin{cases} [\text{CO}_2^t] & \text{für } [\text{CO}_2^{\text{aq}}] \leq [\text{CO}_2^{\text{aq}}]_{\text{(sat)}} \\ [\text{CO}_2^t]_{\text{(sat)}} & \text{für } [\text{CO}_2^{\text{aq}}] > [\text{CO}_2^{\text{aq}}]_{\text{(sat)}} \end{cases}$$

Bei der Berechnung der Sättigungskonzentration ist die Menge des physikalisch gelösten Kohlendioxids eine wichtige Eingangsgröße. Bei gegebenem Partialdruck erfolgt deren Bestimmung mit Hilfe des Henry-Dalton-Gesetzes:

$$\text{Gl. 10} \quad [\text{CO}_2^{\text{aq}}] = H * P(\text{CO}_2)$$

Die Henry-Konstante H hängt von der Temperatur ab. Bei größeren Salzkonzentrationen muß auch ein Einfluß der Ionenstärke der Lösung berücksichtigt werden.

Die Konstanz des Partialdruckes gilt nur für stationäre Zustände. In allen anderen Fällen muß dessen Änderung bei den Berechnungen berücksichtigt werden. Der Partialdruck ist dann sowohl von den Anfangsbedingungen als auch von den Randbedingungen abhängig. Insbesondere seien die folgenden Einflußgrößen genannt:

- Kohlendioxidgehalt von Gas- und Flüssigphase bei Beginn der Reaktion;
- Verhältnis der Volumina von Gas- und Flüssigphase;
- Vorliegen eines offenen oder geschlossenen Systems;
- Durchmischung der beiden Phasen.

Der einfachste Fall liegt vor, wenn man von einer vernachlässigbar kleinen Gasphase mit konstantem Partialdruck ausgeht. Für die übrigen Fälle muß die Programmierung jeweils den herrschenden Verhältnissen angepaßt werden. Die Berechnungen erfolgen durch eine Nullstellenbestimmung für die Gleichungen 7 und 9, wobei Gleichung 9 in die explizite Form überführt wird. Für die Fälle nicht konstanten Partialdruckes muß eine zusätzliche Bestimmungsgleichung aufgestellt werden und in die Nullstellenberechnung einbezogen werden. Die Lösung des Gleichungssystems erfolgt in diesem Falle mit Hilfe der Subroutine ZSCNT aus der IMSL (44) nach einer Sekantenmethode (47).

Abschließend sei ausdrücklich darauf verwiesen, daß bei den Berechnungen stets von der Einstellung aller Gleichgewichte ausgegangen wird. Bei dynamischen Berechnungen kann es jedoch erforderlich sein, die Kinetik des Lösungsvorganges des Kohlendioxids zu berücksichtigen.

Anhang B

BERECHNUNG VON C-BILANZEN

Die Berechnung der Kohlenstoffbilanz wird im folgenden anhand eines Beispielles gezeigt. Zu jedem Volumenstrom wird eine Gleichung für die Berechnung des C-Anteils in mmol/h angegeben.

Experiment: "M. barkeri 03" (Kapitel 6.5.4)

Datum: 20.04.1983 (Versuchszeit $t = 632$ h)

Randbedingungen

$T = 37$ °C
 $P = 1.19$ bar
 $V_R = 135$ l
 $\tau = 19.23$ h

1. Substrat

$S_0 = 309$ mmol/l

$$\text{Gl. 11} \quad n_C(1) = 2 * S_0 * V_R / \tau$$

$$n_C(1) = 4338.5 \text{ mmol/h}$$

2. Produkt, flüssig

$S = 33.5$ mmol/l

$$\text{Gl. 12} \quad n_C(2) = 2 * S * V_R / \tau$$

$$n_C(2) = 470.4 \text{ mmol/h}$$

pH = 6.2

$P(\text{CO}_2) = 0.562$ bar 47.2 % CO_2 im Biogas

$H = 25.4$ mmol/l/bar

$[\text{CO}_2^t] = 25.6$ mmol/l Berechnung siehe unten

$$\boxed{\text{Gl. 13} \quad n_C(3) = [\text{CO}_2^t] * V_R / \tau}$$

$$n_C(3) = 179.7 \text{ mmol/h}$$

4. Produkt, fest

X_1	=	1.210 g/l	Biomasse in Suspension
X_2	=	0.083 g/l	Biomasse in Filtrat
A	=	0.5	

$$\boxed{\text{Gl. 14} \quad n_C(4) = 0.5/M_C * (X_1*(1-A) + X_2*A) * V_R / \tau}$$

$$n_C(4) = 189.1 \text{ mmol/h}$$

5. Biogas

F_V	=	63.8 l/h	Der Gehalt an Methan und Kohlendioxid wird zu 100 % angenommen; gemessen: 52 % CH_4 47.2 % CO_2
R	=	8.314 J/K/mol	
T	=	273.15 K	Der Brooks-Sensor ist auf Standardbedingungen geeicht!

$$\boxed{\text{Gl. 15} \quad n_C(5) = F_V * P / (R * T)}$$

$$n_C(5) = 3343.0 \text{ mmol/h}$$

Summe

$$\boxed{\text{Gl. 16} \quad n_C = -n_C(1) + n_C(2) + n_C(3) + n_C(4) + n_C(5)}$$

$$n_C = -156.3 \text{ mmol/h}$$

Durch Meßungenauigkeiten fehlen 3.60 % C in der Bilanz.

Berechnung der CO_2 -Totalkonzentration

Diese Berechnung erfolgt mit Hilfe der Gleichungen 8 und 10 (siehe Anhang A.4). Der Basebruch für das physikalisch gelöste Kohlendioxid muß anhand des jeweiligen pH-Wertes und der pK-Werte berechnet werden. Die Berechnung des Basebruches erfolgt zweckmäßigerweise mit dem Programm BEREKO (Kapitel 3.3). Tabelle 16 enthält die Basebrüche der Kohlensäure für die wichtigen pH-Werte. Daten für Tabelle 16:

$$T = 37^\circ\text{C} \quad \text{pK}_1 = 6.30 \quad \text{pK}_2 = 10.24$$

TABELLE 16

Basebrüche für Kohlensäure

pH-Wert	$x_{ba}(\text{CO}_2^{\text{aq}})$	$x_{ba}(\text{HCO}_3^-)$	$x_{ba}(\text{CO}_3^{2-})$
5.80	0.75974	0.24025	0.87230E-05
5.82	0.75123	0.24876	0.94575E-05
5.84	0.74253	0.25746	0.10250E-04
5.86	0.73363	0.26636	0.11104E-04
5.88	0.72453	0.27546	0.12024E-04
5.90	0.71524	0.28474	0.13015E-04
5.92	0.70577	0.29421	0.14082E-04
5.94	0.69612	0.30387	0.15229E-04
5.96	0.68629	0.31369	0.16463E-04
5.98	0.67629	0.32369	0.17788E-04
6.00	0.66613	0.33385	0.19211E-04
6.02	0.65581	0.34417	0.20738E-04
6.04	0.64534	0.35464	0.22376E-04
6.06	0.63473	0.36525	0.24132E-04
6.08	0.62399	0.37599	0.26012E-04
6.10	0.61312	0.38685	0.28025E-04
6.12	0.60214	0.39783	0.30178E-04
6.14	0.59106	0.40891	0.32481E-04
6.16	0.57988	0.42009	0.34941E-04
6.18	0.56862	0.43134	0.37568E-04
6.20	0.55729	0.44267	0.40372E-04
6.22	0.54590	0.45406	0.43362E-04
6.24	0.53446	0.46549	0.46549E-04
6.26	0.52298	0.47697	0.49945E-04
6.28	0.51148	0.48846	0.53559E-04
6.30	0.49997	0.49997	0.57404E-04
6.32	0.48846	0.51148	0.61493E-04
6.34	0.47696	0.52298	0.65839E-04
6.36	0.46548	0.53445	0.70454E-04
6.38	0.45404	0.54588	0.75352E-04
6.40	0.44265	0.55727	0.80549E-04
6.42	0.43132	0.56859	0.86060E-04
6.44	0.42006	0.57985	0.91899E-04
6.46	0.40888	0.59102	0.98084E-04
6.48	0.39780	0.60209	0.10463E-03
6.50	0.38682	0.61307	0.11156E-03
6.52	0.37595	0.62393	0.11889E-03
6.54	0.36521	0.63466	0.12663E-03
6.56	0.35460	0.64527	0.13482E-03
6.58	0.34413	0.65573	0.14346E-03
6.60	0.33381	0.66604	0.15258E-03
6.62	0.32365	0.67619	0.16221E-03
6.64	0.31365	0.68618	0.17236E-03
6.66	0.30382	0.69600	0.18307E-03
6.68	0.29416	0.70564	0.19435E-03
6.70	0.28469	0.71511	0.20624E-03
6.72	0.27540	0.72438	0.21876E-03
6.74	0.26630	0.73346	0.23194E-03
6.76	0.25740	0.74235	0.24582E-03
6.78	0.24869	0.75105	0.26042E-03
6.80	0.24019	0.75954	0.27577E-03

Anhang C
GERÄTE- UND CHEMIKALIENLISTE

C.1 GERÄTE FÜR DIE 12-L-FERMENTER

3	Glasgefäße 12 l mit Deckel (siehe Kapitel 4.2)	Glasbläserei der KFA
3	Thermostaten Typ 851852 (Thermomant)	B. Braun Melsungen
3	Rückflußkühler (Liebigkühler)	handelsüblich
3	elektronische Waagen 60 kg; Typ 3807 MP 6	Sartorius GmbH Göttingen
3	Zahnradpumpen micro-pump Nr. P11-361-50C	Ohm GmbH Emmerich
wurden ersetzt durch		
3	Schlauchpumpen Typ 501 U10 MK II	Watson Marlow Limited; Falmouth, England
3	2/2-Wegemagnetventile Nr. V5ABA50630, 24V/50Hz.	Skinner Europa N.V., Roosendaal Holland
3	pH-Elektroden Typ 465-35-90-K9	Dr. W. Ingold KG Frankfurt
3	Redox-Elektroden Typ Pt-4865-35-K9	dto.
3	pH-Meßumformer Typ E561/1	Metrohm AG Herisau, Schweiz
3	Impulsregler E565/1	dto.
3	Redox-Meßumformer Typ E561/1	dto.
1	6-Punktschreiber	dto.
6	Schlauchpumpen Typ mini-S-8	ismatec SA Zürich, Schweiz

C.4 CHEMIKALIEN

Ammoniumchlorid, rein	Merck
Ammoniumeisen-(II)-sulfat, p.a.	Merck
Calciumchlorid-1-hydrat, krist.	Merck
Citronensäure-1-hydrat, p.a.	Merck
L-Cysteinhydrochlorid-hydrat	Serva
Essigsäure, 99 %, technisch	J. Hoesch, Düren
Folsäure, krist., pharm.	Serva
Imidazol Puffersubstanz	Merck
Kaliumchlorid, rein	Merck
Kobalt-(II)-chlorid, p.a.	Merck
Kupfer-(II)-sulfat-5-hydrat, p.a.	Merck
Magnesiumchlorid, p.a.	Merck
Mangan-(II)-sulfat-1-hydrat, p.a.	Merck
Natriumchlorid, krist.,reinst	Merck
di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat, reinst	Merck
Natriumhydroxid, rein	Merck
Natriumsulfid, p.a.	Merck
Natriummolybdat, p.a.	Merck
Natriumselenit-5-hydrat, p.a.	Merck
Nickel-(II)-chlorid, p.a.	Merck
Resazurin. p.a.	Serva
Riboflavin-5'-phosphat, Na-Salz, rein	Serva
Thioharnstoff, p.a.	Merck
Trinitrilotriessigsäure (Titriplex I)	Merck
Titan-(III)-chlorid, p.a.	Merck
Zinksulfat-7-hydrat, p.a.	Merck

Anhang D

ARBEITSVORSCHRIFTEN FÜR DEN ANSATZ VON NÄHRMEDIEN

D.1 NÄHRMEDIUM FÜR DIE 12-L-FERMENTER

Menge: 20 l

Gefäß: 20l-Enghalsflasche,
versehen mit 1 doppelt durchbohrten Gummistopfen

Während des Einfüllens der Flüssigkeiten wird mit einem Magnetrührer gerührt. Der Kolben und die Lösung wird ständig mit Argon durchspült. Dazu wird durch eine GL-14-Verschraubung ein langes Glasrohr (6mm außen) in die Lösung geführt und an die Argonleitung angeschlossen.

Die Menge sämtlicher eingefüllter Lösungen muß sorgfältig protokolliert werden. Nach Zugabe aller Substanzen wird die Lösung mit Bidest auf die Sollmenge aufgefüllt.

Menge / ml	Lösung	Substanz	eingefüllt / ml
10000		Bidest
354		Eisessig
200	1.03	Phosphat
500	2.02	Alkalien
200	3.01	Erdalkalien
40	4.06	Spurenelemente IV
20	5.01	FMN
20	6.01	Folsäure
20	9.01	Antibiotika
5	7.01	Resazurin

7500		Bidest
pH-Wert mit 2N Natronlauge auf pH 4.0 einstellen.			
?		Natronlauge

		Zwischensumme

Zum Anaerobisieren wird die Lösung weitere 15 Minuten mit Argon durchspült. Hierbei findet noch keine Entfärbung statt, da noch kein Reduktionsmittel in der Lösung ist.

Von nun an wird der Kolben nur noch unter einem Gegenstrom von Argon geöffnet! Die Reduktionsmittel werden in kurzer Folge hinzugefügt. Die Lösung darf sich anschließend nicht wieder verfärben.

Menge / ml	Lösung	Substanz	eingefüllt / ml
Übertrag		
20	11.01	Titan-(III)-citrat
200	12.02	Eisen-(II), Cystein
0	14.01	Sulfid (100 mmolar!)
?		1 N Natronlauge (entgast)
insgesamt eingegeben		
?		Bidest auf 20000 ml

D.2 SUBSTRAT 1 FÜR DEN 150-L-FERMENTER

Menge: 2300 l

Gefäß: 2500-l-PE-Tank

Die Substanzen werden in 20-l-Enghalsflaschen vorgelöst und in den Tank gepumpt. Dabei erfolgt eine Sterilfiltration (Porenweite 0.2 µm).

Der Tank wird bis zur entsprechenden Marke mit deionisiertem Wasser aufgefüllt, das ebenfalls sterilfiltriert wird.

Zur Entfernung der gelösten Luft und zur besseren Durchmischung wird die Lösung von unten mit Argon durchströmt.

Menge / kg	Substanz	eingefüllt / kg
43.47	Eisessig
4.60	NaOH
4.30	Phosphat
5.17	Ammoniumchlorid
4.94	Natriumchlorid
0.90	Kaliumchlorid

D.3 SUBSTRAT 2 FÜR DEN 150-L-FERMENTER

Menge: 20 l

Gefäß: 20l-Edelstahlbehälter (Millipore),
 versehen mit 1 Filterkerze,
 1 Membranventil mit Silikonschlauch und
 1 Anstechnadel mit Sterilhülse.

Während des Einfüllens der Flüssigkeiten wird mit einem Magnetrührer gerührt. Der Behälter und die Lösung werden ständig mit Argon durchspült. Dazu wird ein Schlauch mit Glasfritte in die Lösung gehängt und an die Argonleitung angeschlossen.

Die Menge sämtlicher eingefüllter Lösungen muß sorgfältig protokolliert werden. Nach Zugabe aller Substanzen wird die Lösung mit Bdest auf die Sollmenge aufgefüllt. Die einzuwiegenden Substanzen werden in einem 5-l-Meßkolben vorgelöst (außer Cystein und Ammoniumeisen-II-sulfat).

Menge / ml	Lösung	Substanz	eingefüllt / ml
10000		Bdest
117 g		Calciumchlorid
163 g		Magnesiumchlorid
800	4.06	Spurenelemente IV
400	5.01	FMN
400	6.01	Folsäure
100	7.01	Resazurin
Zwischensumme		

Zum Anaerobisieren wird die Lösung weitere 15 Minuten mit Argon durchspült. Hierbei findet noch keine Entfärbung statt, da noch kein Reduktionsmittel in der Lösung ist.

Von nun an wird der Behälter nur noch unter einem Gegenstrom von Argon geöffnet! Die Reduktionsmittel werden in kurzer Folge hinzugefügt. Die einzuwiegenden Substanzen werden nicht vorgelöst. Die Lösung darf sich anschließend nicht wieder verfärben.

Menge / ml	Lösung	Substanz	eingefüllt / ml
		Übertrag
200 (max)	11.01	Titan-(III)-citrat
59.7 g ⁸		L-Cystein-HCl-H ₂ O
(11.9 g)			
31.5 g		Ammoniumeisen-II-sulfat
		insgesamt eingegeben
?		Bdest auf 20000 ml

Aus Kostengründen wurde die Cysteinmenge drastisch reduziert. Es konnte kein negativer Einfluß festgestellt werden.

Anhang E

DIAGRAMME ZUR DATENVERARBEITUNG

E.1 DATENFLUSSPLAN

Abb. 14 zeigt den Datenflußplan für die gesamte Datenverarbeitung an der Fermentieranlage. Zeichnung und Symbolik erfolgte nach DIN 66001 (65).

Bemerkungen und Erläuterungen zu Abb. 14:

- Innerhalb der Programme und Prozeduren erfolgt eine Darstellung des aktuellen Standes auf dem Terminal. Zur besseren Übersicht sind diese Ausgaben nicht eingezeichnet.
 - FP steht für Fortran-Programme; SR steht für Subroutine.
 - ICP steht für "Indirect Command File"; als Synonym für ICP wird auch der Begriff Prozedur verwendet.
1. Eine formatierte sequentielle Datei mit Angaben für die Ablage der Daten und Parametern für die Umrechnung von gemessenen Größen in die Meßwerte ist einmalig anzulegen.
 2. Nach dem Trennen der Kanäle (3 Ausgänge sind stellvertretend für alle Kanäle dargestellt) werden diejenigen selektiert, die für die Rückgabe von Steuergrößen an den Prozeß erforderlich sind (2 Eingänge sind stellvertretend für die erforderlichen Meßgrößen dargestellt).
 3. Die weitere Verarbeitung der Daten erfolgt "offline". Offline bedeutet hier, daß die folgenden Operationen zeitlich nicht mehr an die Meßwertaufnahme gekoppelt sind. Innerhalb der online-Verarbeitung werden die angelegten Dateien unmittelbar nach der Auswertung durch die folgende Operation gelöscht. Lediglich die Dateien, die vor der Schnittstelle zwischen online- und offline-Verarbeitung angelegt wurden, werden längerfristig gespeichert. Nach der Trennung der Kanäle innerhalb der online-Verarbeitung werden die Daten in unformatierten direct-access-Dateien abgespeichert. Jede Version unter einem Dateinamen wird mit einer vorgewählten Anzahl von Zeilen aufgefüllt, wenn sie nicht vorher vom Benutzer weiterverarbeitet wird.

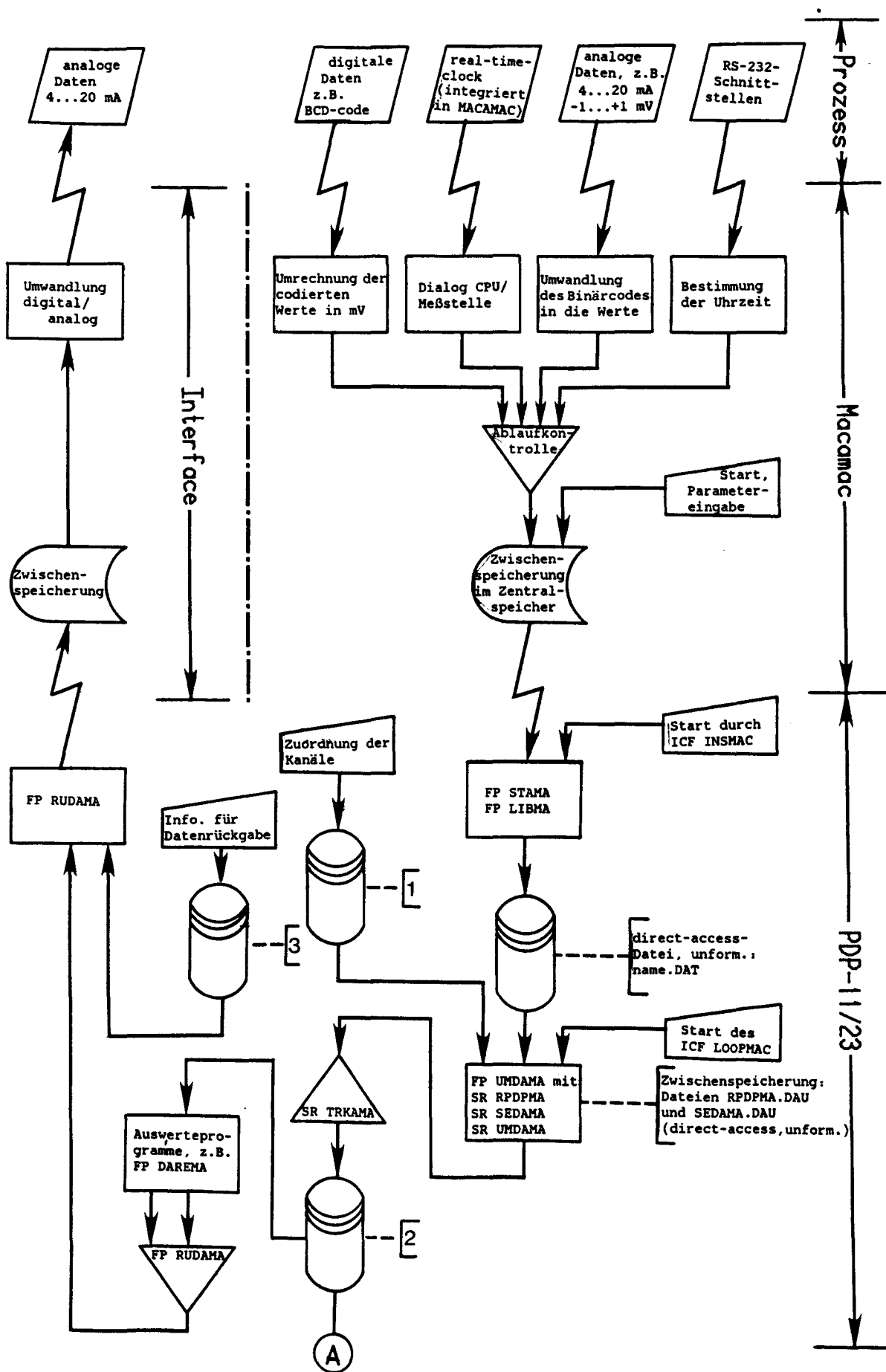


Abb. 14: Datenflußplan, Teil 1

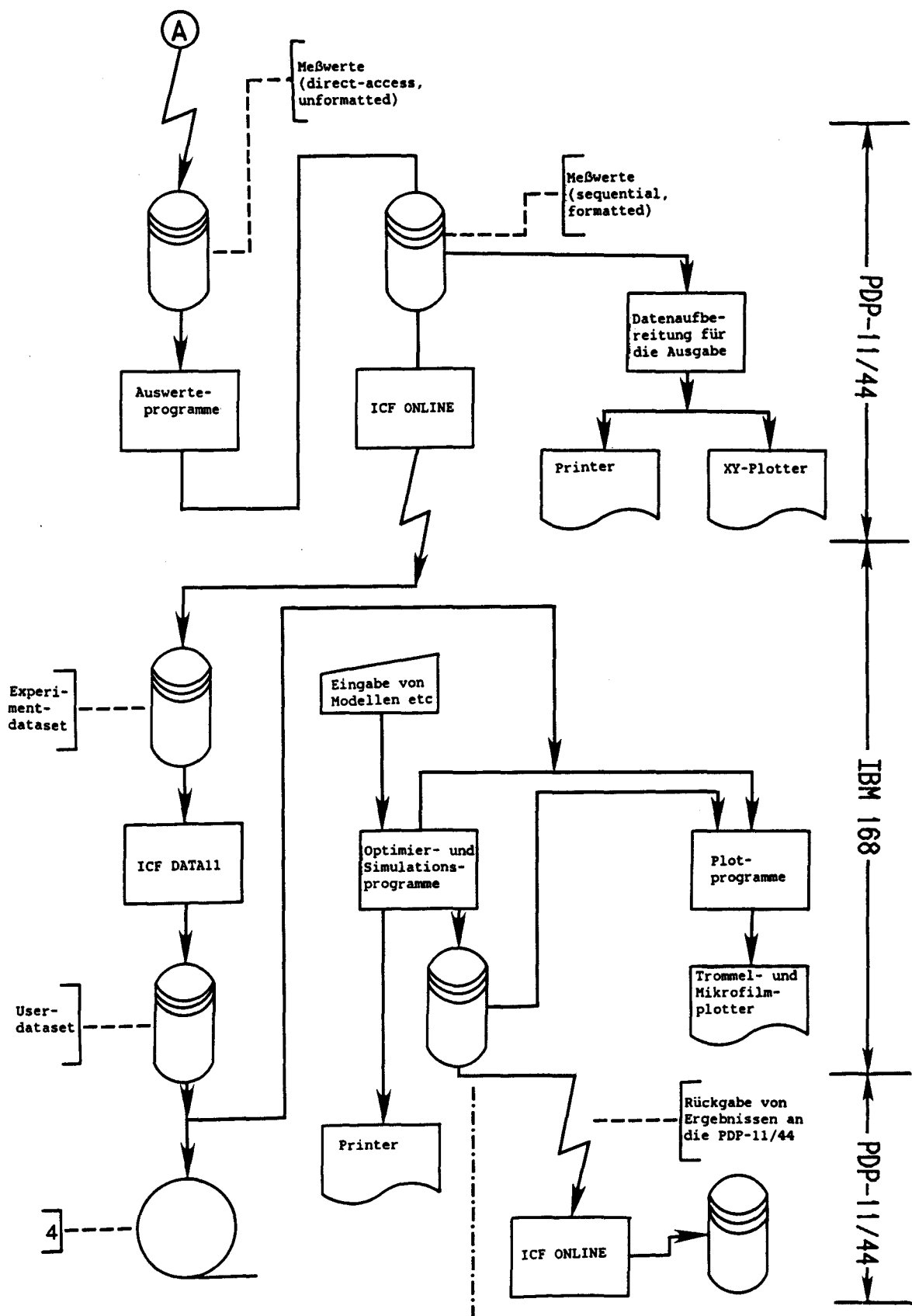


Abb. 14: Datenflußplan, Teil 2

4. Größere Datenmengen können auf Magnetband abgelegt werden.

E.2 PROGRAMMABLAUFPLÄNE

Die im folgenden ohne weitere Kommentare abgedruckten Programmablaufpläne, die ebenfalls nach DIN 66001 (65) gezeichnet wurden, sollen die Anwendung der Programme erleichtern. Zur Erläuterung können die allgemeinen Beschreibungen in Kapitel 4.4.2 und die Kommentare in den Programmlisten (nicht in dieser Arbeit enthalten) herangezogen werden.

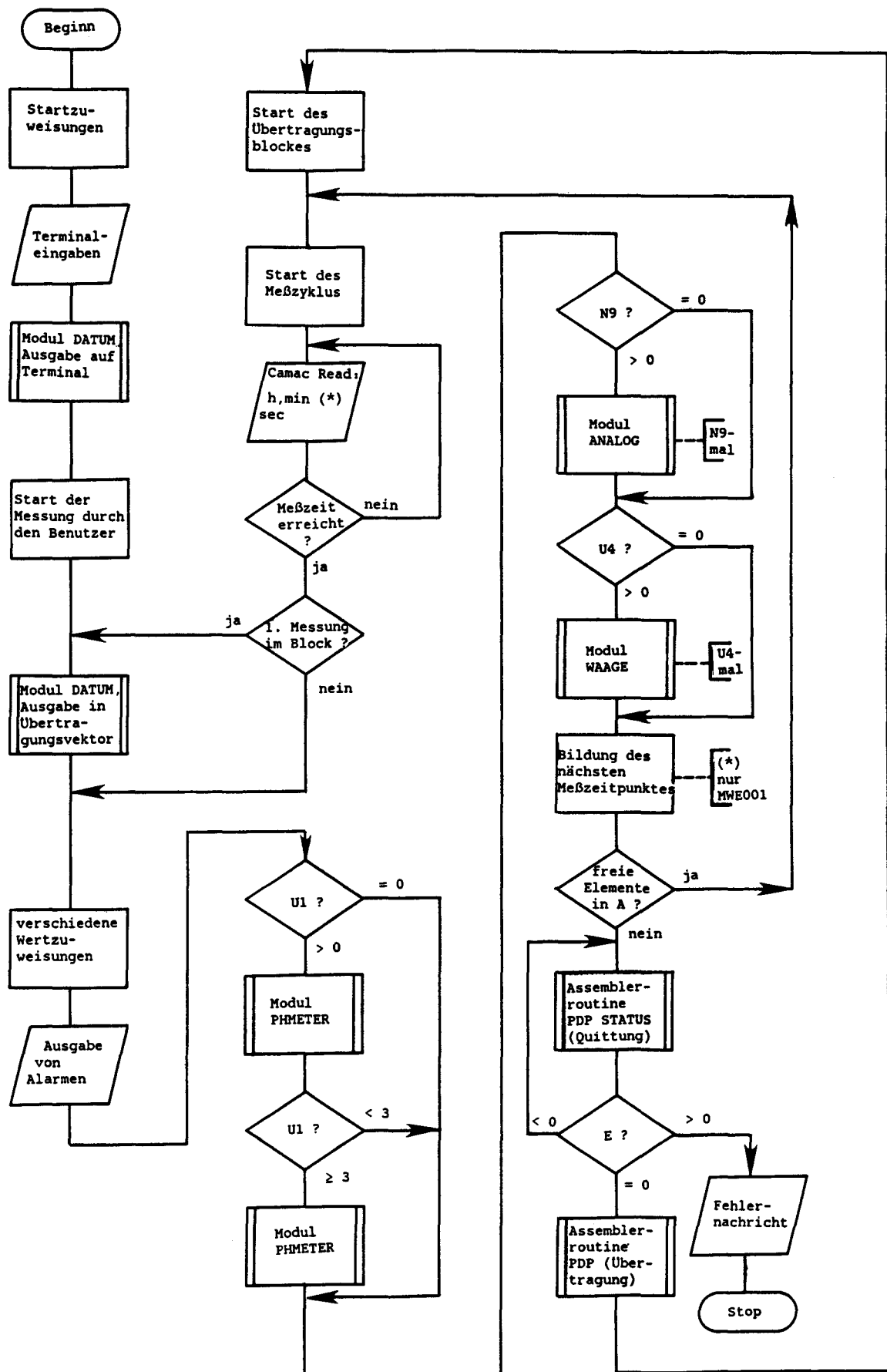


Abb. 15: Programmablaufplan MWE011

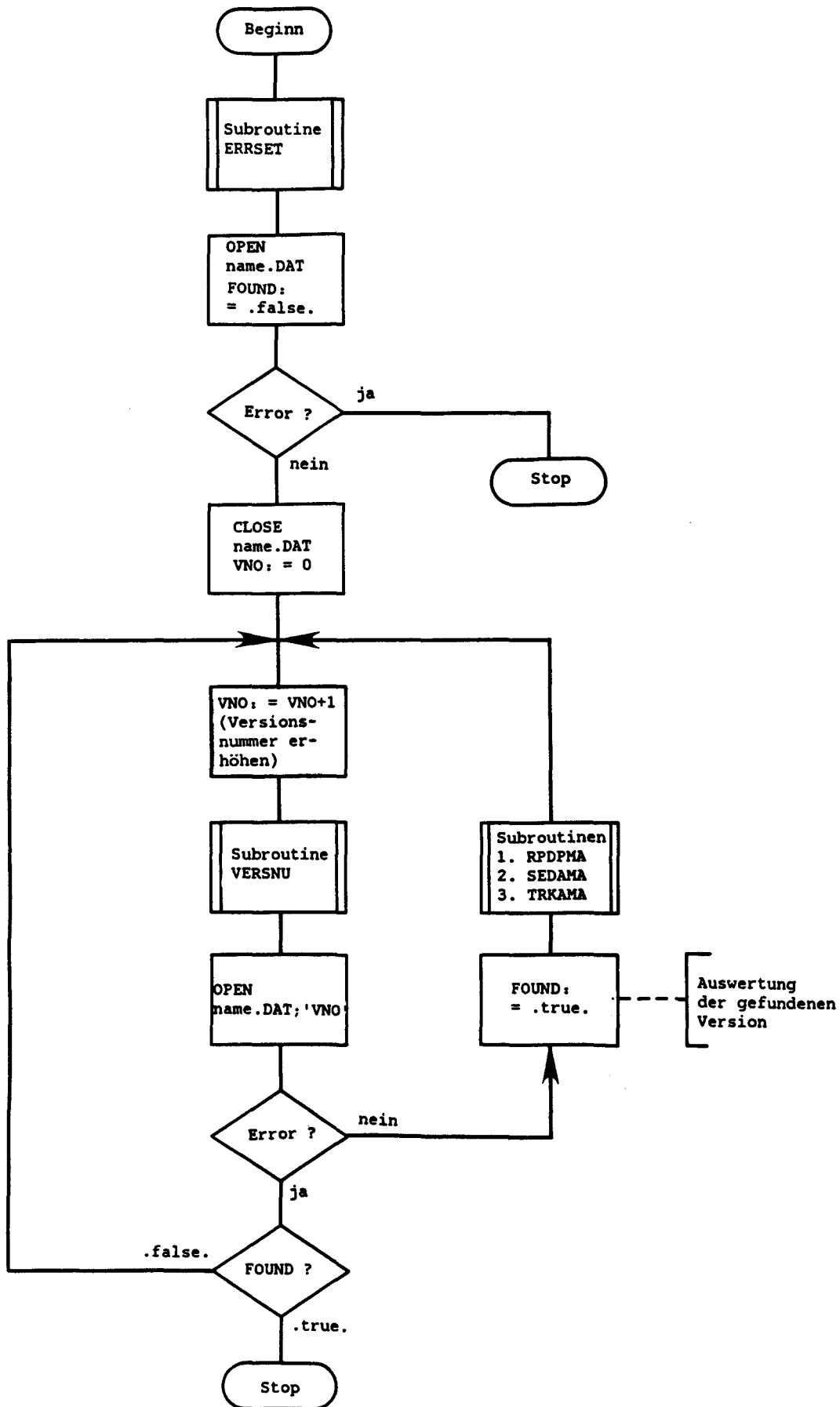


Abb. 16: Programmablaufplan UMDAMA

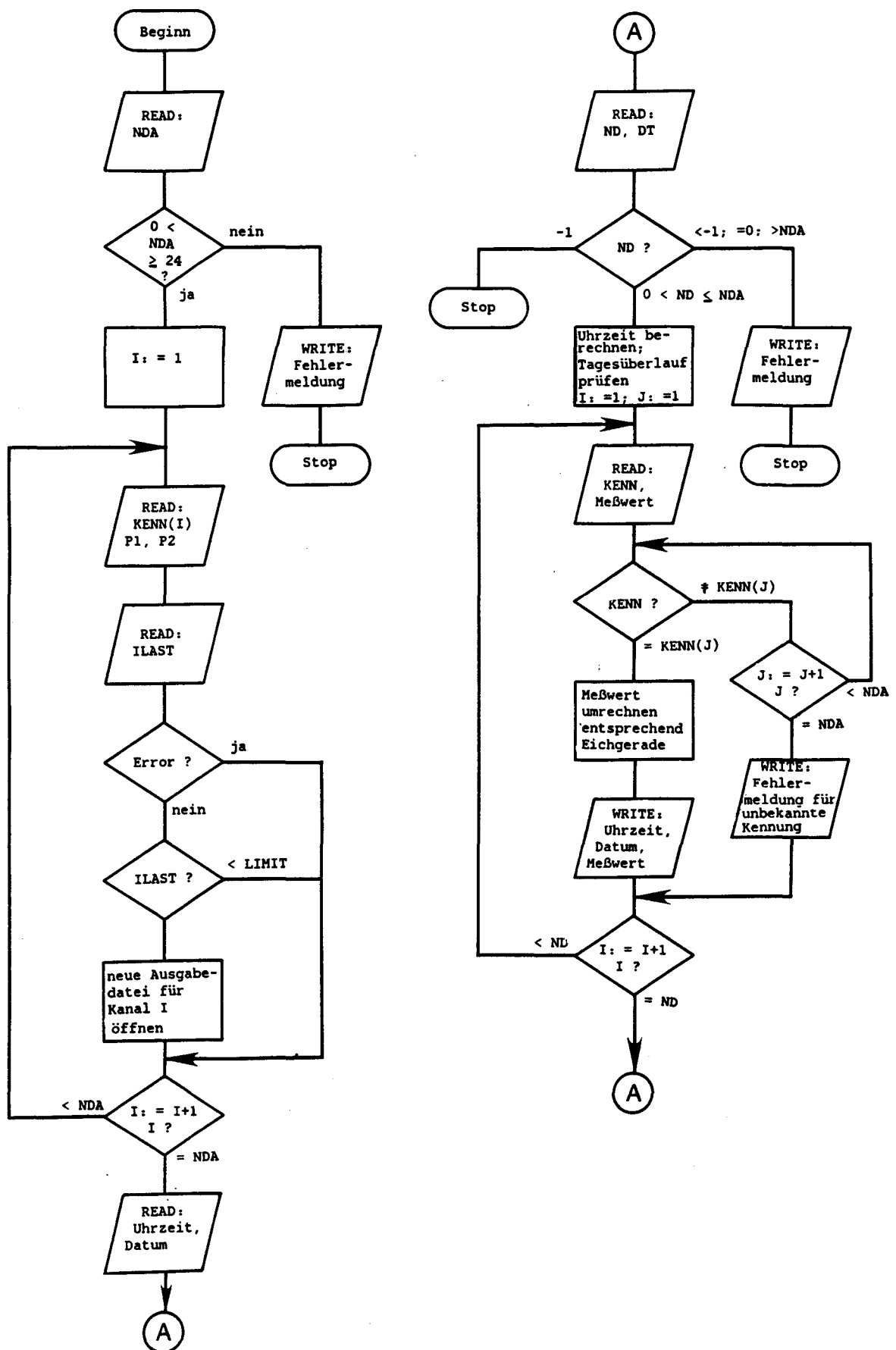


Abb. 17: Programmablaufplan TRKAMA

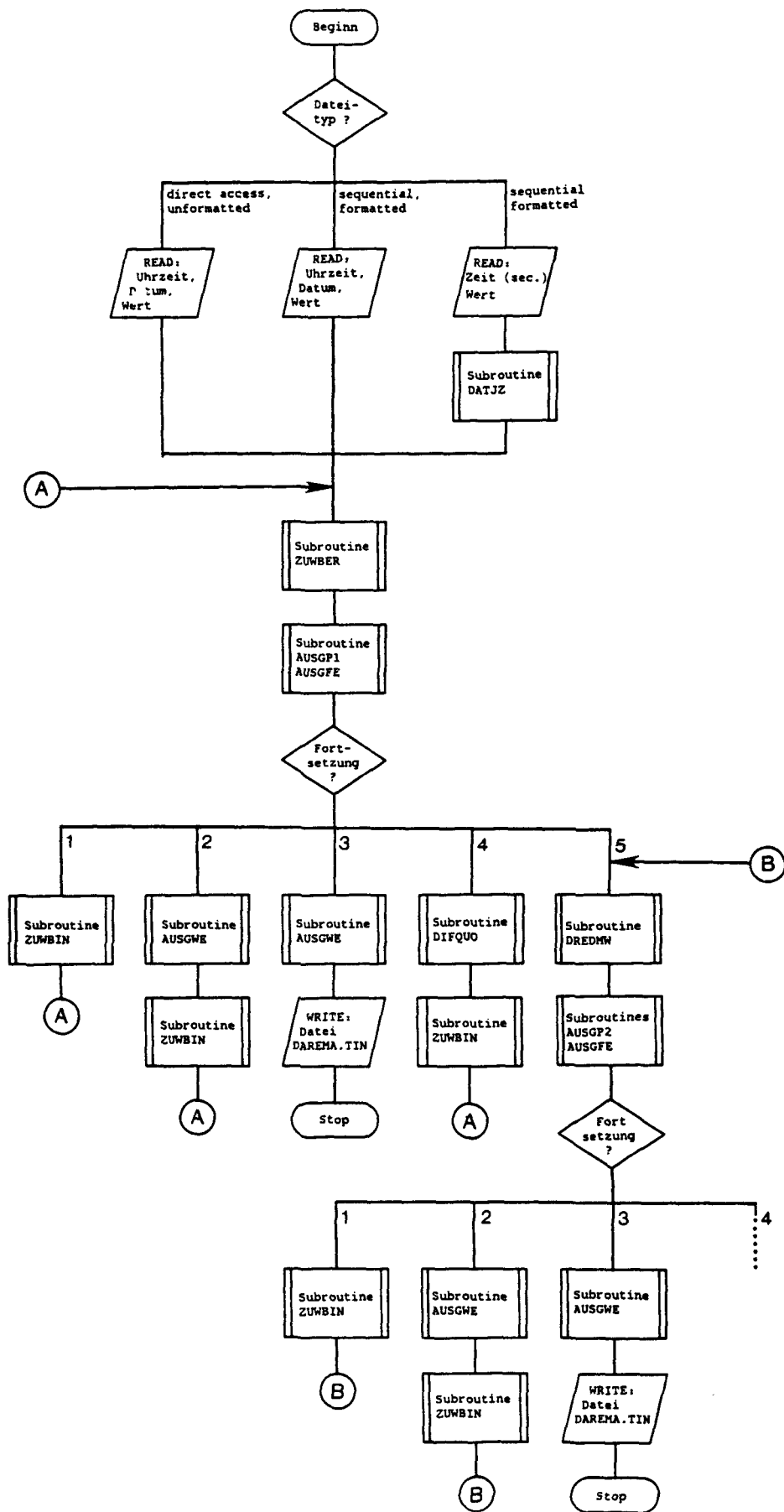


Abb. 18: Programmablaufplan DAREMA

LITERATURVERZEICHNIS

1. E.A. Stadlbauer, V.E. Strauß: Biogas - Energie aus Abfall; Bild der Wissenschaft; 10; 1977; 86
2. Biogas als Energiequelle? BMFT-Mitteilungen 11/1979
3. K. H. Hansmeyer et al.: Rationelle Energienutzung und neue Energiequellen; in Funkkolleg Mensch und Umwelt, Studienbegleitbrief 9, 23. Kollegstunde; Beltz Verlag; Weinheim; 1982
4. Weltweit größte Biogasanlage; Chemische Rundschau vom 15.4.1982
5. Biogas industriell erzeugt, 600 Rinder produzieren täglich ein Heizöläquivalent von 164000 l; VDI-Nachrichten vom 30.4.1982
6. Energie aus der Mülldeponie, Industriewerk nutzt Methangas zur Produktion von Bausteinen; Frankfurter Rundschau vom 27.7.1982
7. Energie von der Deponie, Hochtaunuskreis befaßt sich mit der Methangasnutzung; Frankfurter Rundschau vom 14.8.1982
8. Biogas aus Abwasser; Neue Zürcher Zeitung vom 18.8.1982
9. Biogasanlagen arbeiten erfolgreich; Frankfurter Rundschau vom 21.8.1982
10. W. Schönbaum: Biotechnologische Fragen der Schlammfäulung; in Klärschlamm, Stand und Aussichten; herausgegeben vom BMFT, Bonn, anlässlich eines Expertengesprächs am 20.6.1978, veranstaltet vom Projektträger Biotechnologie, KFA Jülich
11. H. Bick, D. Ewringmann: Wassergütepolitik; in Funkkolleg Mensch und Umwelt, Studienbegleitbrief 3, 8. Kollegstunde; Beltz Verlag; Weinheim; 1982
12. Wasserhaushaltsgesetz (WHG) in Fassung der Bekanntmachung vom 16.10.1976 (Bundesgesetzblatt I, S. 3017); nachgedruckt in: H. Gerold (Herausgeber): Umweltschutzgesetze; München 1980
13. Abwasserabgabengesetz (AbwAG) in Fassung der Bekanntmachung vom 16.10.1976 (Bundesgesetzblatt I, S. 2721, Berichtigung S. 3007); nachgedruckt in: H. Gerold (Herausgeber): Umweltschutzgesetze; München 1980

14. H. Crönert, H.-L. Dalpke, W. Klipper, D. Pothmann, W. Berndt: Papier, Faserrohstoffe; in Ullmann's Enzyklopädie der technischen Chemie; Band 17; 531
15. K. Hoch: Verminderung/Vermeidung der durch die sauren Eindampfkondensate in Sulfitzellstofffabriken entstehenden Abwasserbelastung; Abschlußbericht an das Bundesministerium für Forschung und Technologie; BMFT-FB-T 81-131; August 1981
16. W. Kanzler, J. Schedler: Verfahren zur Verwertung von Brüdenkondensaten in Sulfitzellstofffabriken; Vortrag im Rahmen der Achema, Juni 1982
17. P. Scherer, H. Sahm: Growth of Methanosarcina barkeri on Methanol or Acetate in a Defined Medium; Proc. 1st Inst. Sympos. on Anaerobic Digestion, University College Cardiff, 1979; Scientific Press Cardiff, 1980
18. P. Scherer: Influence of Sulphur-Containing Compounds on the Growth of Methanosarcina barkeri in a Defined Medium; European Journ. Appl. Microbiol. Biotechnol.; Vol. 12; 1981; 28;
19. P. Scherer, H. Sahm: Effects of trace elements and vitamins on the growth of Methanosarcina barkeri; Acta Biotechnologica 1 (1981) 1;57-65
20. G. Brune: Mikrobieller anaerober Abbau von Brüdenkondensat aus der Zellstoffindustrie; Dissertation; Düsseldorf 1982
21. E.A. Stadlbauer: Methanbildung durch anaerobe Fermentation; in E.A. Stadlbauer, H. Sixt, H.G. Konstandt et al.: Biogasanlagen; Reihe Kontakt und Studium (Hrsg.: W.J. Bartz); Band 103; Expert Verlag; Grafenau; 1982
22. R.S. Wolfe, I.J. Higgins: Microbial Biochemistry of Methane - A Study in Contrasts; in J.R. Quayle (Editor): International Review of Biochemistry; Microbial Biochemistry; Volume 21, 267; Baltimore 1979
23. S. Schoberth: Mikrobielle Methanisierung von Klärschlamm; Chemie - Biologie - Potential; in Klärschlamm, Stand und Aussichten; Expertengespräch am 20.6.1978; Projektträger Biotechnologie, KFA Jülich
24. H.G. Schlegel: Allgemeine Mikrobiologie; 4. überarbeitete Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1976
25. M.R. Smith, S.H. Zinder, R.A. Mah: Microbial Methanogenesis from Acetate; Process Biochemistry, May 1980, 34-39
26. W.E. Balch, G.E. Fox, L.J. Magrum, C.R. Woese, R.S. Wolfe: Methanogens: Reevaluation of a Unique Biological Group; Microbiological Reviews; Vol. 43, No. 2; June 1979; 260-296

27. R.K. Thauer, G. Fuchs: Methanogene Bakterien; ungewöhnliche Zellkomponenten und Stoffwechselwege in einer Bakteriengruppe mit phylogenetischer Sonderstellung; Naturwissenschaften 66; 1979; 89-94
28. J.B. Jones, B. Bowers, T.C. Stadtman: Methanococcus vaniellii: Ultrastructure and Sensitivity to Detergents and Antibiotics; Journal of Bacteriology; 130; 1977; 1357
29. M.P. Bryant: Methaneproducing Bacteria; in R.W. Dougherty (ed.): Physiology and Digestion in the Ruminant; Butterworth; London 1974; 411
30. R.P. Gunsalus, D. Eirich, J. Romesser, W. Balch, S. Shapiro, R.S. Wolfe: Methyl Transfer and Methane Formation; in H. Schlegel, G. Gottschalk, N. Pfennig (eds.): Microbial Production and Utilization of Gases; Erich Goltze KG, Göttingen, 1976; 191
31. T.C. Stadtman, H.A. Barker: Studies on the Methane Fermentation; Journal of Bacteriology; Vol. 61; 1951; 81
32. H.A. Barker: Bacterial Fermentations; John Wiley and Sons, Inc.; New York 1956
33. P. Cheeseman, A. Toms-Wood, R.S. Wolfe: Isolation and Properties of a Fluorescent Compound, Factor 420, from Methanobacterium Strain M.o.H.; Journal of Bacteriology; Vol. 112; 1972; 527
34. L.D. Eirich, G.D. Vogels, R.S. Wolfe: Proposed Structure for Coenzyme F 420 from Methanobacterium; Biochemistry; Vol. 17; No. 12; 1978; 4583-93
35. R. Mink, P.R. Dugan: Tentative Identification of Methanogenic Bacteria by Fluorescence Microscopy; Applied and Environmental Microbiology; Vol. 33; No. 3; 1977; 713
36. F.S. Tzeng, M.P. Bryant, R.S. Wolfe: Factor 420-Dependent Pyridine Nucleotid-Linked Hydrogenase System of Methanobacterium ruminantium; Journal of Bacteriology; Vol. 121; 1975; 192
37. B.A. Huser: Methanbildung aus Acetat: Isolierung eines neuen Archaeobacteriums; Dissertation Nr. 6750; ETH Zürich; 1981
38. R.A. Mah, D.M. Ward, L. Baresi, T.L. Glass: Biogenesis of Methane; Annual Reviews of Microbiology; Vol. 31; 1977; 309-41
39. J. Monod: Recherche sur la Croissance des Cultures bacteriennes; Herman et Cie.; Paris 1942

40. Kh. Bastin: Analytische und kinetische Untersuchungen zur kontinuierlichen Herstellung von L-Äpfelsäure mit Fumarase; Diplomarbeit; TU Clausthal 1979
41. Gmelin: Handbuch der anorganischen Chemie; Kohlenstoff; Teil C3; 8. Auflage; Verlag Chemie; Weinheim; 1973
42. C. Bliefert: pH-Wertberechnungen; Verlag Chemie; Weinheim; 1978
43. R. Brdizka: Grundlagen der physikalischen Chemie; VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften; 11. Auflage; Berlin 1972
44. International Mathematical and Statistical Library; Copyright 1982 by IMSL, Inc., Houston, Texas, USA
45. B. Leavenworth: Algorithm 25: Real Zeros of an Arbitrary Function; Communications of the ACM; Vol. 3(11); 1960; 602
46. D.E. Muller: A method for solving algebraic equations using an automatic computer; Mathematical Tables and Aids to Computation; Vol. 10; 1956; 208
47. P. Wolfe: The Secant Method for Simultaneous Non-linear Equations; Communications of the ACM; Vol. 2; 1959
48. F. Seel: Grundlagen der analytischen Chemie; 7., überarbeitete Auflage; Verlag Chemie; Weinheim; 1979
49. Lord Iveagh: Gas production on the farm; Power Farming; Vol 7; 1951; 87
50. W. Noack: Biogas in der Landwirtschaft; Elsner; Darmstadt; 1955
51. F. Reinhold: Gasgewinnung in der Landwirtschaft nach dem System "Darmstadt"; Landtechnik; Vol 7(2); 1952; 33
52. A. Gärtner, S.D. Ikonomoff; Faulraum (Gasanlage) "System München"; Stadthygiene; Vol 5; 1956; S. 1976
53. D.A. Stafford, D.L. Hawkes, R. Horton: Methane Production from Waste Organic Matter; CRC Press, Inc.; Boca Raton, Florida; 1980
54. O. Levenspiel: Chemical Reaction Engineering; second edition; John Wiley and Sons, Inc.; New York 1972
55. A. Aivasidis, C. Wandrey: Different Methods on Biomass Retention in Continuous Anaerobic Digestion; Poster session Biochemical Engineering Conference III; Santa Barbara, Cal., USA; Sep. 1982; eingereicht zur Veröffentlichung: Proceedings of the New York Academy of Sciences

56. C. Wandrey, A. Aivasidis: Continuous Anaerobic Digestion with Methanosarcina barkeri; Paper session Biochemical Engineering Conference III; Santa Barbara, Cal., USA; Sep. 1982; eingereicht zur Veröffentlichung: Proceedings of the New York Academy of Sciences
57. K. Bastin, C. Wandrey: Process Dynamic Aspects in Continuous Anaerobic Fermentation; Paper session Biochemical Engineering Conference II; Henniker, N. Hampsh., USA; July 1980; published in: Proceedings of the New York Academy of Sciences; 1981
58. P. Scherer (Institut für Biotechnologie, KFA Jülich): persönliche Mitteilungen; 1980
59. A. Aivasidis (Institut für Biotechnologie, KFA Jülich): persönliche Mitteilung; 1980
60. DIN 19227: Bildzeichen und Kennbuchstaben für Messen, Steuern, Regeln in der Verfahrenstechnik; Deutscher Normenausschuß, Berlin; September 1973
61. Kh. Bastin, W. Horbach, C. Möller-Bremer, C. Wandrey: Angebotsanfrage für einen 150-l-Fermenter; Okt. 1980; IBT 2 der KFA Jülich; unveröffentlicht
62. DIN 28004: Fließbilder verfahrenstechnischer Anlagen; Deutscher Normenausschuß, Berlin; Juni 1977
63. H.-J. Stuckenberg: CAMAC, eine Einführung in ein System standardisierter Datenwege zwischen Rechnern und ihrer Peripherie; Bundesministerium für Forschung und Technologie, Forschungsbericht DV 75-05, Datenverarbeitung (BMFT-FB DV 75-05); Oktober 1975
64. G. Brandenburg, W. Bremer, M. Rudolph: Periodische Prozeßführung; Interner Bericht KFA-ZEL 5-001-81; KFA Jülich
65. DIN 66001: Sinnbilder für Datenfluß- und Programmablaufpläne; Deutscher Normenausschuß, Berlin; Oktober 1969
66. G. Brandenburg, H. Halling, G. Lech, H. Ringel: Realtime Basic for MACAMAC (INTEL 8080); Interner Bericht ZEL-500177; KFA Jülich
67. M. Rudolph, G. Brandenburg: Kommunikations-Driver für MACAMAC-MEMORY-EXTENSION NE 394; Interner Bericht KFA-ZEL 500780, KFA Jülich
68. M. Rudolph: Kommunikationssystem zur Datenarchivierung auf einer PDP-11/34 mit dem Betriebssystem RSX-11M; Interner Bericht KFA-ZEL 500-2/81; KFA Jülich
69. R.S. Twigg: Oxidation-Reduction Aspects of Resazurin; Nature; 3935; March 1945; 401

70. H. Galster: Natur, Messung und Anwendung der Redoxspannung; Chemie für Labor und Betrieb; 30. Jahrgang; Teil 1: 8/1979; 330-335; Teil 2: 9/1979; 377-380
71. Gmelin: Handbuch der anorganischen Chemie; Schwefel; Teil B; Lieferung 1; Systemnummer 9; S. 91; 8. Auflage; Verlag Chemie; Weinheim; 1953
72. J.H. Karchmer: The Analytical Chemistry of Sulphur and its Compounds; Part 1; in P.J. Elving, I.M. Kolthoff (eds.): Chemical Analysis; Interscience Publishers; John Wiley; New York 1970
73. H. Galster: Vorläufige Anleitung zur rS-Meßkette Typ Ag-275-85; Firmenschrift der Dr. W. Ingold KG
74. T. Frevert: Determination of Hydrogen Sulfide in Saline Solutions; Schweiz. Z. Hydrol.; 42/2; 1980; 255-268
75. R. Kaiser: Chromatographie in der Gasphase; Band IV: Quantitative Auswertung; Hochschultaschenbücher Band 22; Bibliographisches Institut Mannheim; 1969
76. V. Mahadevan, L. Stenroos: Quantitative Analysis of Volatile Fatty Acids in Aqueous Solution by Gas Chromatography; Analytical Chemistry; Vol. 39; No. 13; 1967; 1652
77. D.M. Ottenstein, D.A. Bartley: Improved Gas Chromatography Separation of Free Acids C2-C5 in Dilute Solution; Analytical Chemistry; Vol. 43; No. 7; 1971; 952
78. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Hrsg.: Fachgruppe Wasserchemie in der GDCh und Normenausschuß Wasserwesen (NAW) im DIN; Verlag Chemie; Weinheim; 11. Lieferung 1982
79. G. Diekert, B. Weber, R.K. Thauer: Nickel Dependence of Factor F420 Content in Methanobacterium thermoautotrophicum; Archives of Microbiology; Vol. 127; 1980; 273-278
80. W.D. Murray, L. van den Berg: Effects of Nickel, Cobalt, and Molybdenum on Performance of Methanogenic Fixed-Film Reactors; Applied and Environmental Microbiology; Vol. 42; No. 3; 1981; 502-505
81. H. Follmann, H. Märkl: pH-statisches Verfahren zur kontinuierlichen anaeroben Vergärung von hochbelasteten Abwässern zu Methan; Teil 1: Entwicklung des Konzeptes; Milchwirtschaft Bd. 34; Nr. 6; 1979; 347-350; Teil 2: Experimentelle Untersuchungen und Verifizierung des Konzeptes am Beispiel der Molke; Milchwirtschaft Bd. 34; Nr. 7; 1979; 347-350;

82. H. Märkl: Methangewinnung aus Molke; Wissenschaft und Umwelt; Bd. 3; 1981; 129-134
83. S. Schoberth, G. Brune (Institut für Biotechnologie, KFA Jülich): persönliche Mitteilungen; 1982
84. U. Hoffmann, H. Hofmann: Einführung in die Optimierung; Verlag Chemie; Weinheim; 1971
85. PDP-11 FORTRAN-77; Language Reference Manual; Digital Equipment Corporation; Maynard, Massachusetts
86. S. Aiba, A.E. Humphrey, N.F. Millis: Biochemical Engineering; 2. Edition; Academic Press; New York and London; 1973
87. A. Margaritis, C.R. Wilke Engineering Analysis of the Rotorfermentor; in: Developments in Industrial Mikrobiology; Vol. 13; American Institute of Biological Sciences; Washington, D.C.; 1972
88. S. Schoberth (Institut für Biotechnologie, KFA Jülich): persönliche Mitteilungen; 1983
89. G. Lettinga, A.F.M. van Velsen, S.W. Hobma, W. de Zeeuw, A. Klapwijk: Use of the Upflow Sludge Blanket (USB) Reactor Concept for Biological Wastewater Treatment, Especially for Anaerobic Treatment; Biotechnology and Bioengineering; Vol. 22; 1980; 699-734
90. A. Aivasidis, G. Brune (Institut für Biotechnologie, KFA Jülich): persönliche Mitteilungen; 1982
91. A. Aivasidis, (Institut für Biotechnologie, KFA Jülich): persönliche Mitteilungen; 1983
92. J.J. Heijnen: Process for Preparing Biomass Attached to a Carrier; European Patent Application; Appl. No. 80200764.1; Publication No. 0 028 846 A1; 1981